E 2159

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

R

REFERALVA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

COLEGIUL DE REDACȚIE:

Redactor responsabil: prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct: prof. V. STĂNESCU
Secretari de redacție: farm. VASILICA ANTONESCU
conf. ST. TĂMĂȘDAN

MEMBRI:

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEȘAN (Cluj-Napoca), farm. ANA BERECHET, prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FIRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, conf. D. MONCIU, conf. Gh. MORAIT, farm. N. OPRESCU, conf. D. OȚELEANU, conf. I. POPA, farm. NICULINA POPA, farm. V. POPOVICI (Timișoara), conf. E. PUȘCARU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV

1

IANUARIE — MARTIE 1975

ÎN ATENȚIA AUTORILOR

1. Articolele se trimit în dublu exemplar, scrise la mașină la două rînduri, cu viza și prin intermediul filialei U.S.S.M., pe adresa : Uniunea Societăților de Științe Medicale, pentru Redacția revistelor, str. Progresului nr. 8, sectorul VII, București. Autorii vor face corectarea dactilografierii materialului trimis.

2. Se va menționa data comunicării lucrării în ședința Secției de specialitate a U.S.S.M. Articolele vor purta în mod obligatoriu semnătura autorilor și adresa lor exactă, pentru corespondență și retribuție.

3. După titlul articolului, autorii vor indica : numele exact și prenumele în întregime, titluri științifice sau funcția în specialitate, institutul, spitalul sau unitatea unde a fost realizată lucrarea, precum și numele conducătorului instituției. La sfîrșitul articolului se pot insera discuțiile și aprecierile făcute lucrării în ședința de comunicări științifice.

4. Articolele nu vor depăși :

a) 1 pagină dactilografiată pentru referate, cronici, dări de seamă ;

b) 2 pagini dactilografiate pentru recenzii, tehnici, inovații și istoria medicinei ;

c) 4 pagini dactilografiate pentru fapte și observații clinice, probleme de organizare, rapoarte asupra unor schimburi de experiență ;

d) 6 pagini dactilografiate pentru lucrări cu caracter experimental, articole originale ;

e) 10 pagini dactilografiate pentru referate generale. În numărul de pagini prevăzut se include și bibliografia.

5. Articolele originale vor fi însoțite de un rezumat cu un text de maximum 10 rînduri, pe o pagină separată, avînd în titlu numele autorilor (fără titluri personale) și titlul lucrării. Rezumatele vor cuprinde obiectul lucrării, rezultatele obținute și concluziile.

6. Materialul iconografic, în două exemplare (în plicuri separate), va fi însoțit de un borderou cuprinzînd legenda imaginilor. Acest material va fi redus la un număr strict necesar pentru ilustrarea datelor cuprinse în articol. În textul articolului se va indica locul unde urmează a fi plasată fiecare imgine. Fotografiile vor purta pe verso numele revistei, numele primului autor și titlul lucrării. Înregistrările grafice, diagramele, schemele se recomandă a fi făcute cu tuș negru pe hîrtie de calc. Materialele vor cuprinde numai numărul strict necesar de tabele.

7. Bibliografia citată în text va cuprinde, pentru cărți, tratate și manuale :

— numele autorilor cu inițialele prenumelor ;

— titlul cărții în limba originală (fără prescurtări), editura, localitatea și anul publicării ;

ex. : CIUREZU T., TIMOFTE GEORGETA — Medicamente psihotrope, Ed. medicală, București, 1973 ;

iar pentru articole :

— numele autorilor cu inițialele prenumelor ;

— titlul revistei în prescurtarea internațională, anul apariției, nr. volumului, numele primei și ultimei pagini, separate printr-o liniuță.

Se recomandă ca citatele bibliografice, în afara monografiilor și tratatelor clasice, să se refere la articole apărute în ultimii 5—10 ani, iar pentru referatele generale și articolele de actualitate la ultimii 5 ani.

8. Nu se acceptă lucrări care au mai fost tipărite sau trimise spre publicare altor reviste.

9. Articolele neacceptate pentru publicare nu se restituie autorilor.

10. Redacția va răspunde în timp util autorilor despre acceptarea, neacceptarea sau necesitatea modificării articolului.

11. Autorii poartă întreaga răspundere pentru textele citate și desenele reproduse.

COLEGIUL DE REDACȚIE

MŰSZAKI KÖNYVTÁR 1883

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ
A SOCIETĂȚII
DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 8. Sectorul VII — Telefon 13.89.73

VOLUMUL XXIII IANUARIE 1 MARTIE 1975

LUCRĂRI ORIGINALE. CERCETĂRI EXPERIMENTALE

Cercetări privind acțiunea antibiotică a preparatelor de roibă (Rubia tinctorum L.)

I. Formanek, L. Domokos, G. Horváth

Facultatea de farmacie, I.M.F. Tîrgu Mureș

REZUMAT

Din rădăcina speciei Rubia tinctorum L. (Rubiaceae) *s-au obținut principiile active sub formă de total de antraglicozide și total de agliconi antracenici.*

S-au urmărit acțiunea asupra unui număr de 24 de microorganisme. Ciupercile s-au dovedit a fi mai sensibile decît sușele de bacterii folosite. Din numărul total de 10 microbi, acțiunea cea mai pronunțată s-a observat la Shigella largei-sachsii, Sh. ambigua, Staphylococcus aureus *și* Streptococcus haemolyticus. *Din cele 6 specii de ciuperci, efectul cel mai puternic s-a înregistrat la* Rhinoclaviela sp.

Rădăcina de roibă *(Rubia tinctorum L)* din culturile noastre experimentale conține derivați antrachinonici (3—4%) care pot servi la obținerea de medicamente apreciate în urologie. Acțiunea terapeutică a preparatelor este legată de prezența derivaților hidroximetilantrachinonici (1, 2, 3).

Preparatele pe care le-am obținut din acest drog prezintă acțiune diuretică (4) și calculolitică *in vitro* (5), respectiv de prevenire a formării calculilor urinari (6, 7).

Avînd în vedere interesul terapeutic pe care îl prezintă derivaţii antracenici din roibă, ne-am propus să urmărim presupusul efect antibiotic al preparatelor obţinute din rădăcinile acestei plante. Studiind datele din literatura de specialitate cu privire la acţiunea şi întrebuinţarea antibiotică a roibei, se remarcă numărul mic al publicaţiilor, iar acestea denotă un spectru antimicrobian mai redus (8, 9).

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Am determinat acţiunea antibiotică a principiilor active din *Rubia tinctorum L* cultivată în grădina de plante medicinale a Institutului de medicină şi farmacie din Tîrgu Mureş. Din rădăcinile uscate la temperatura camerei am obţinut preparatele : 1) „totalul de antraglicozide" ; 2) „totalul de agliconi antracenici" ; 3) pulberea de rădăcină. Modul de obţinere a preparatelor a fost descris anterior (4).

1. Am urmărit acţiunea antimicrobiană a preparatelor asupra unui număr de 18 specii de germeni şi anume : *Salmonella typhi, S. paratyphi, S. paratyphi B, S. paratyphi C, S. enteritidis-S. typhi-murium, Shigella flexneri* 2a, *Sh. sonnnei, Sh. largei sachsii, Sh. boydii, Sh. ambigua, Pseudomonas aeruginosa, Esch. coli* O_{55}, *Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus, Streptococcus haemolyticus, Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis var. hominis.*

Ca metodă de lucru am aplicat procedeul difuzimetric orizontal şi metoda diluţiilor în medii solide.

Cu procedeul difuzimetric orizontal am urmărit efectul antimicrobian al celor două preparate („totalul de antraglicozide" şi „totalul de agliconi antracenici") asupra unui număr de 18 specii de germeni. În cazul acestei metode am folosit plăci Petri cu geloză simplă, respectiv geloză-sînge, avînd o suprafaţă de circa 95 cm^2. După însămînţarea şi uscarea culturilor am aplicat din ambele preparate soluţii de 2% în cantităţi de 0,01 ml, 0,02, 0,03 şi 0,05 ml, respectiv 0,2, 0,4, 0,6 şi 1,0 mg. În cazul probelor martor am folosit ser fiziologic şi eter. Soluţia din „totalul de antraglicozide" a fost sterilizată prin tindalizare.

Tabelul I

Microorganismul	Total de antraglicozide				Total de agliconi				Martor
	0,2 mg	0,4 mg	0,6 mg	1,0 mg	0,2 mg	0,4 mg	0,6 mg	1,0 mg	
Shigella largei-sachsii	1	1	2	3	0	0	1	2	0
Shigella ambigua	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Staphylococcus aureus	0	0	0	0	1	1	2	2	0
Streptococcus haemolyticus	0	0	0	0	0	1	1	1	0

Legenda : 0 = inactiv
1 = 11—15 mm zonă de inhibiţie
2 = 16—20 mm zonă de inhibiţie
3 = 21—25 mm zonă de inhibiţie

Plăcile au fost ținute la termostat 20—24 de ore, după ce s-a determinat diametrul zonei de inhibiție. Rezultatele obținute cu acest procedeu sînt cuprinse în tabelul I.

Din datele tabelului I reiese că preparatele obținute din rădăcina de roibă au prezentat o acțiune antimicrobiană cu spectru redus, și anume :

— în cazul aplicării „totalului de antraglicozide", efectul antibiotic este evident numai la *Shigella largei-sachsii* (diluția 1 : 9 450) ; în acest caz, inhibarea totală a dezvoltării a putut fi observată pînă la cantitatea de 0,2 mg ;

— față de „totalul de agliconi antracenici" s-au dovedit a fi mai sensibili microbii : *Shigella largei-sachsii* (diluția 1:300 000 000), *Sh. ambigua* (diluția 1 : 300 000 000), *Staphylococcus aureus* (diluția 1 : 600 000 000), *Streptococcus haemolyticus* (diluția 1 : 642 600).

În cazul metodei diluțiilor în mediu solid am folosit plăci Petri cu geloză simplă, respectiv geloză-sînge, cu o suprafață de aproximativ 95 cm^2 ; în mediile de cultură au fost înglobate preparatele în diferite diluții, realizînd concentrații de 0,01, 0,04, 0,2, 0,4 și 0,8%. Suprafața mediilor a fost însămînțată cu culturi de germeni diluate cu bulion în proporție de 1 : 360 000 pentru *Shigella largei-sachsii ;* 1 : 395 200 pentru *Sh. ambigua ;* 1 : 600 000 000 pentru *Staphylococcus aureus ;* 1 : 775 200 pentru *Streptococcus haemolyticus*. În cazul probelor martor, cantitatea de preparat a fost înlocuită cu ser fiziologic, respectiv eter. Plăcile au fost ținute la termostat timp de 24 de ore, după care s-a citit numărul coloniilor de pe suprafața plăcii.

Tabelul II

Microorganismul	Numărul germenilor după 24 de ore de incubare la diluții de								
	Total de antraglicozide				Total de agliconi				
	0,04%	0,2%	0,4%	0,8%	0,01%	0,04%	0,2%	0,4%	0,8%
Shigella largei-sachsii	30 000 000	1932	28	Steril	33 250	Steril	Steril	Steril	Steril
Shigella ambigua	0	0	0	0	14 725	Steril	Steril	Steril	Steril
Staphylococcus aureus	0	0	0	0	35 625	Steril	Steril	Steril	Steril
Streptococcus haemolyticus	0	0	0	0	35 150	Steril	Steril	Steril	Steril

Legenda: 0 = inactiv

Rezultatele obținute cu metoda diluțiilor în medii solide sînt cuprinse în tabelul II. În cazul „totalului de antraglicozide" o inhibiție pronunțată s-a putut observa pînă la diluția de 0,8%, iar la „totalul de agliconi antracenici", pînă la diluția de 0,04%.

Rezultatele obținute prin metoda diluțiilor prezintă o analogie cu cele obținute prin metoda difuzimetrică. În toate cazurile s-au obținut rezultate asemănătoare, iar la cele din urmă s-au dovedit a fi cele mai

sensibile microorganismele *Shigella largei-sachsii, Sh. ambigua, Staphylococcus aureus* și *Streptococcus haemolyticus.*

2. Determinarea acțiunii fungistatice a preparatelor de *Rubia tinctorum L.* s-a efectuat cu o metodă asemănătoare celei folosite pentru Sabouraud (10), dar s-a dovedit a fi mai bun mediul de geloză cu acid citric.

Am folosit metoda difuzimetrică. Pe suprafața mediului solid de cultură însămînțat cu suspensie de microorganisme am plasat 4 preparate de roibă (pulberea rădăcinii de roibă „totalul de antraglicozide" în soluție apoasă de 2%, „totalul de agliconi antracenici" soluție în ulei de floarea soarelui, „totalul de agliconi antracenici" în soluție eterică) în depozite circulare, plasate direct pe mediul solid.

În experiențele noastre am urmărit acțiunea extractelor asupra următoarelor ciuperci : *Candida albicans, Geotrichum candidum, G. louberi* (Parisis) *Morenz, Rhodotorula rubra, Rhinoclaviela sp., Saccharomyces cerevisiae.*

Ciupercile patogene s-au dezvoltat mai încet în comparație cu dezvoltarea majorității microbilor. Rezultatele obținute cu acest procedeu sînt cuprinse în tabelul III. Din datele tabelului reiese că preparatele de roibă au prezentat o acțiune fungistatică semnificativă. Tulpina de ciupercă *Rhinoclaviela sp.* s-a dovedit a fi cea mai sensibilă față de toate preparatele (pînă la 0,4 mg, exprimate în principii active), iar la celelalte tulpini de ciuperci *(Candida albicans, Geotrichum candidum, G. louberi* (Parisis) *Morenz, Rhodotorula rubra, Saccharomyces cerevisiae),* inhibiția completă s-a instalat cu pulberea rădăcinii de roibă și „totalul de agliconi antracenici" 2% în soluție eterică.

Tabelul III

Ciuperca	Pulberea de rădăcină de roibă 0,4 mg	Totalul de antraglicozide 2% în apă 0,4 mg	Totalul de agliconi 2% în ulei 0,4 mg	Totalul de aglicon 2% în eter 0,4 mg
Candida albicans	1	0	0	2
Geotrichum candidum	1	0	0	1
Geotrichum louberi (Parisis) *Morenz*	1	0	0	2
Rhodotorula rubra	1	0	0	1
Rhinoclaviela sp.	2	1	1	1
Saccharomyces cerevisiae	1	0	0	3

Legenda : 0 = inactiv
1 = 11—15 mm zonă de inhibiție
2 = 16—20 mm zonă de inhibiție
3 = 21—25 mm zonă de inhibiție

CONCLUZII

S-a urmărit efectul antimicrobian a trei preparate de rădăcină de roibă *(Rubia tinctorum L.):* 1) „total de antraglicozide" ; 2) „total de

agliconi antrecenici" ; 3) pulbere de rădăcină, asupra unui număr de 24 de microorganisme.

Preparatele obținute din rădăcina de roibă au prezentat o acțiune antimicrobiană cu spectru redus. S-au dovedit a fi cele mai sensibile microorganismele : *Shigella largei-sachsii, Sh. ambigua, Staphylococcus aureus* și *Streptococcus haemolyticus.*

Preparatele de roibă au prezentat o acțiune fungistatică semnificativă. Ciuperca *Rhinoclaviela sp.* s-a dovedit a fi cea mai sensibilă față de toate preparatele, iar la celelalte tulpini de ciuperci *(Candida albicans, Geotrichum candidum, G. louberi* (parisis) *Morenz, Rhodotorula rubra, Saccharomyces cerevisiae)* s-a observat o inhibiție numai la unele preparate.

BIBLIOGRAFIE

1. KELLER J. — *Pharmazie,* 1951, 16, 675. — 2. MADAUS G. — Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Ed. Georg Thieme, Leipzig, 1938. — 3. NIKONOV C. K. — *Apt. Delo,* 1962, 2, 31. — 4. FORMANEK I., RÁCZ-KOTILLA ELISABETA — *Farmacia (Buc.),* 1972, 7, 439. — 5. FORMANEK I., RACZ-KOTILLA ELISABETA, SEBE A. — *Rev. med. (Tîrgu-Mureș),* 1971, 3—4, 427. — 6. RÁCZ-KOTILLA ELISABETA, FORMANEK I., RÁCZ G., SEBE A. — *Rev. med. Tîrgu-Mureș,* 1972, 2, 196. — 7. RÁCZ-KOTILLA E., FORMANEK I., RÁCZ G. — *Plant. méd. Phytothér.,* 1973, 3, 250. — 8. DROBOTKO V. G., AISENMAN B. E., SWEIGER M. O., ZELEPUHA S. J., MANDRIK T. P. — Antimikrobnie vescestva vîscih rastenii, Ed. Akad. Nauk, Kiev, 1958. — 9. GAMMERMAN A. F. — Fitonțidii, Ed. Naukova Dumka, Kiev, 1967. — 10. NESTORESCU N. — Bacteriologie medicală, ed. a II-a, Ed. medicală, București, 1965.

Articol intrat în redacție la 25.III.1974.

Indicele de clasificare : 615.32 Rubia tinctorum L. — 017.799.3

SUMMARY

I. Formanek, L. Domokos, G. Horváth — INVESTIGATIONS ON THE ANTIBIO-ACTION OF MADDER PRODUCTS (RUBIA TINCTORIUM L.)

Active principles in the form of total anthraglycoside and total anthracenic aglycons were obtained from madder roots.

The action of these products was tested on 24 microorganisms, the fungi proving more sensitive than the bacteria strains used. The effect was more marked on *Shigella largei-sachsii, Sh. ambigua, Staphylococcus aureus* and *Streptococcus haemolyticus* of the 18 microbial strains and on *Rhinoclaviela sp.* of the 6 fungi tested.

РЕЗЮМЕ

И. Форманек, Л. Домокос, Т. Хорват — ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ВОПРОСУ АНТИ-БИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТОВ МАРЕНЫ *(RUBIA TINCTORIUM L.)*

Из корня растения вида *Rubia tinctorium L.* авторы получили действующее начало в общей форме атраглюкозида и в общей форме антраценовых агликонов. Исследовалось действие его на 24 вида микроорганизмов.

Грибки оказались более чувствительными чем примененные штаммы бактерий. Из общего числа 18 микробов наиболее выраженное действие было отмечено в отношении *Shigella largei-sachsii, Sh. ambigua, Staphylococcus aureus, Steptococcus haemolyticus,* а из 6 видов грибков наиболее сильный эффект получился в отношении *Rhinoclaviela sp*

Cromatografia în strat subțire și spectrofotometria în U.V. în analiza calitativă și cantitativă a medicamentelor. III. Determinarea prometazinei din amestecuri medicamentoase *

Elena Curea, Mirela Martinovici

Laboratorul pentru controlul medicamentelor, Facultatea de farmacie, I.M.F. Cluj-Napoca

REZUMAT *S-au preparat și identificat printr-o metodă cromatografică în strat subțire componentele din unele preparate farmaceutice (pulberi, supozitoare, soluții), care conțin prometazină alături de aminofenazonă și barbiturice (fenobarbital, amobarbital), utilizînd plăci cu silicagel G, sistemul de solvenți: hexan-dietilamină-alcool etilic (2,5—0,50—1,00) și reactivi chimici de revelare.*

Prometazina s-a determinat cantitativ printr-o metodă spectrofotometrică cu raze ultraviolete în UV, dintr-un amestec binar cu aminofenazona, după separarea excipienților și reținerea componentelor cu caracter acid pe o coloană cu schimbători de ioni (Dowex 2×4). Eluatele metanolice care conțin amestecul de prometazină cu aminofenazonă se spectrofotometrează la 275 și 252 nm în cuve de 1 cm față de metanol. Metoda poate fi aplicată în limitele de concentrație 1—25 μg/ml prometazină și 0,5—45 μg/ml aminofenazonă, deviația standard a unei determinări situîndu-se sub 2%.

Prometazina [10(-dimetilaminopropil)-fenotiazina] este un neuroleptic slab, utilizat ca antihistaminic puternic într-o serie de afecțiuni alergice. Acțiunea sa analgezică și sedativă potențează efectele narcoticelor și ale altor analgezice cu care adesea se asociază. Astfel, prometazina (maleat) se prescrie în cantități mici (în forme farmaceutice diferite: soluții, siropuri, supozitoare, pulberi, comprimate) în asociere cu hipnotice de tip barbituric și cu aminofenazona. Determinarea prometazinei din aceste amestecuri prin metode clasice presupune separarea ei prin operații de extracții laborioase, de durată, care necesită cantități mari de probe și implică erori relativ destul de mari.

În lucrarea de față ne-am propus, pe de o parte elaborarea unei metode cromatografice de identificare a prometazinei alături de alți compuși activi cu care se asociază în mod frecvent în practica farmaceutică și, pe de altă parte, dozarea ei printr-o metodă spectrofotometrică în U.V. care să permită în același timp stabilirea integrității moleculei, ținînd seama de posibilitățile de oxidare rapidă ale nucleului fenotiazinic în condițiile de preparare.

* Lucrare comunicată la Congresul național de farmacie, București, iulie 1973.

S-au luat în studiu amestecurile care conţin prometazină (maleat) alături de fenobarbital, barbital, amobarbital şi aminofenazonă, întîlnite în cîteva formule magistrale ca pulberi, supozitoare, soluţii (tabelul I).

Tabelul I

Nr. crt.	Formula/doză principiu activ	I Pulbere (g)	II Pulbere (g)	III Pulbere* (g)	IV Supozitoare** (g)	V/200 ml Soluţie *** (g)	VI/ 100 ml Soluţie (g)
		Prometazina + aminofenazona					
1	Prometazina (maleat)	0,0075	0,009	0,015	0,004	0,180	0,100
2	Aminofenazona	0,050	0,060	0,040	0,050	3,00	1,200
3	Fenobarbital	0,100		0,100	0,03	0,500****	
4	Barbital		0,100				
5	Amobarbital	0,100	0,100				

* Conţine *Magnesia usta* . . . . . 0,05 g
** Conţine *Butir cacao* . . . . . 2,00 g
*** Conţine *Infusia Althea* 4/120
**** Conţine Fenobarbital-Na

1. CARACTERIZAREA CROMATOGRAFICĂ ÎN STRAT SUBŢIRE A PRINCIPIILOR ACTIVI

Pentru identificarea principiilor activi din amestecurile medicamentoase luate în studiu prin cromatografie în strat subţire, s-au utilizat :

— plăci cromatografice (15/20 cm) cu silicagel G (0,25 mm), activate la 120°C timp de o oră ;

— sistemul de solvenţi format din : hexan-dietilamină-alcool etilic 95° (2,50/0,50/1,00) ;

— soluţii etalon 0,1% în metanol ale principiilor activi prezenţi în amestec.

PREGĂTIREA PROBELOR

Pulberile — se omogenizează (0,1 g), se suspendă în 10 ml metanol, se agită energic şi se filtrează. Din filtrat se aplică 10 µl la linia de start.

Soluţiile — 1 ml soluţie (~ 0,2%) se diluează cu 10 ml metanol şi din soluţia astfel obţinută se aplică 10—20 µl la linia de start.

Supozitoarele — 0,5 g masă supozitor se dizolvă în eter de petrol (50 ml). Se aduce conţinutul cantitativ pe un filtru şi se îndepărtează stratul organic prin filtrare. Reziduul rămas pe filtru, constituit din principii activi insolubili în eter de petrol se dizolvă în metanol (10 ml). Din soluţia obţinută se aplică 10 µl la start.

Linia de start a plăcilor cromatografice este situată la 2 cm de la bază. După aplicarea pe placă a probelor şi a etaloanelor cu ajutorul unei micropipete, aceasta se introduce în bacul cromatografic (saturat în prealabil cu vaporii sistemului de solvenţi), astfel încît distanţa dintre linia de start şi nivelul lichidului din bac să fie de aproximativ 1,5 cm.

După migrarea solvenţilor pînă la linia de front, situată la 1 cm de la marginea superioară a plăcii, aceasta se usucă cu un curent de aer rece. Revelarea spoturilor are loc prin pulverizarea reactivilor chimici, în ordinea numerotării lor, după indicaţiile din tabelul II.

Tabelul II

Nr. crt.	Principiu activ	Suport	Sistem de solvenți	Reactiv revelare	Culoare	Rf.	Sensibilitate (μg)
1	Fenobarbital	Silicagel G	Hexan : dietilamină ; alcool etilic (2,5 :0,5;1,00)	$R_1 = Hg_2(NO_3)_2$ 2 %	Gri-închis	0,22	1
2	Barbital					0,30	
3	Amobarbital					0,39	
4	Aminofenazonă			$R_2 = FeCl_3$ 5 %	Violet-brun	0,62	10
5	Prometazină			$R_3 = FeCl_3$ 50 % (1 ml) H_2SO_4 concentrat (15 ml) H_2O (35 ml)	Roșu	0,75	0,25

În același tabel se mai indică date privind prepararea reactivilor, culorile spoturilor, valorile Rf cît și limitele de sensibilitate la care pot fi evidențiați prin această metodă principii activi prezenți.

2. DETERMINAREA CANTITATIVĂ A PROMETAZINEI (MALEAT) ALĂTURI DE AMINOFENAZONĂ

În amestecurile luate în studiu, prometazina se găsește asociată cu substanțe cu caracter acid (barbiturice) și cu caracter bazic (aminofenazona). În vederea determinării prometazinei alături de aminofenazonă, după îndepărtarea barbituricelor și a excipienților s-a aplicat metoda spectrofotometrică în U.V. a amestecurilor binare, bazată pe aditivitatea extincțiilor (extincția soluției cu n componente este egală cu suma extincțiilor la lungimea de undă respectivă a n soluții, conținînd un singur component la aceleași concentrații și grosimi de strat (7).

Spectrul în U.V. al prometazinei (maleat) în metanol prezintă maxime la 252 nm și 301 nm și minime la 220,5 și 275 nm (1).

Din studiul spectral întreprins de noi pentru o serie de soluții care conțineau produsul pur sau oxidat, am ajuns la concluzia că prezența impurităților sau a unor produse de oxidare poate fi evidențiată cu ușurință prin modificarea raportului corespunzător celor două absorbții de la un minim și maxim $\left(\frac{A_{275}}{A_{252}}\right)$ și care pentru prometazina pură este egal cu 0,052 ± 0,001.

În elaborarea metodei spectrofotometrice de determinare a prometazinei, alături de aminofenazonă, ne-am bazat pe cercetările lui Pernarowski (2, 3) potrivit cărora un component dintr-un amestec binar poate fi determinat în condițiile în care se cunosc :

— absorbția amestecului binar la 2 lungimi de undă (de obicei, cele corespunzătoare unui maxim și unui minim din spectrul componentei de determinat – A_M) :

— absorbția soluției de referință (A_R) care conține o anumită cantitate din componenta de determinat (C_R), la cele două lungimi de undă ;

— raporturile absorbțiilor $\left(\frac{A_{275}}{A_{252}}\right)$ la cele două lungimi de undă,

pentru fiecare din componentele amestecului binar, determinate în prealabil pe soluții care conțin numai o singură componentă, prometazină, respectiv aminofenazonă (Q_x, respectiv Q_y);

— extincția specifică a soluției (1 g/l) de prometazină (E) la maximum ei de absorbție ($\chi = 252$ nm) = 78 ± 0,002.

MODUL DE LUCRU

Din curba de absorbție individuală a prometazinei (maleat) în metanol, într-o concentrație cunoscută (C_R) cuprinsă între 2 și 10 mg/l se calculează $E = 78 \pm 0{,}002$ și raportul $Q_x = \frac{A_{275}}{A_{252}} = 0{,}052 \pm 0{,}001$.

Din curba de absorbție individuală a aminofenazonei în metanol se calculează raportul $Q = \frac{A_{275}}{A_{252}} = 1{,}023 \pm 0{,}005$. La cele două lungimi de undă (275 și 252 nm), legea Lambert-Beer este verificată în limitele de concentrație 0,5—45 μg/ml pentru aminofenazonă și 1—25 μg/ml pentru prometazină.

Datele obținute au fost trecute în tabelul III și introduse în formula de calcul (a):

$$C_x \text{ (g/l)} = C_R + \frac{D_1 - Q_y D_2}{E\,(Q_x - Q_y)},$$

unde: C_x = concentrația (g/l) de prometazină din probă; C_R = concentrația (g/l) soluției de referință (prometazinei); D_1 = diferența dintre absorbția amestecului (A_M) și absorbția soluției de referință (A_R) la $\chi = 275$ nm; D_2 = diferența absorbțiilor ($A_M - A_R$) la $\chi = 252$ nm; Q_x, Q_y = raportul $\frac{A_{275}}{A_{252}}$ pentru prometazină, respectiv pentru aminofenazonă; E = extincția specifică pentru soluția 1 g/l de prometazină în metanol la 252 nm (= 78 ± 0,002).

Tabelul III

Nr. crt.	Substanța	Concetrația soluției de referință C_R g/l	nm		E^1_{1g} la $\lambda = 252$ nm	$Q_x = \frac{A_{275}}{A_{252}}$	$Q_y = \frac{A_{275}}{A_{252}}$
			λ max	λ min			
1	Prometazină (maleat)	0,00852	252	275	78±0,002	0,52±0,001	
2	Aminofenazonă						1,023±0,005

Pentru determinarea prometazinei din preparatele luate în studiu se procedează la separarea excipienților și a principiilor activi cu caracter acid prin trecerea soluțiilor sau suspensiilor în metanol peste coloane cu schimbători de ioni (R—Cl).

Pulberile — se omogenizează în mojar și se cîntărește exact o probă (0,08—0,10 g), se suspendă în metanol 10—20 ml, se agită în vederea solubilizării principiilor activi și se filtrează. Filtratul se aduce cantitativ cu metanol peste o coloană (1,5×10 cm) cu schimbători de ioni R—Cl [Dowex 2×4 (20—50 mesh)] adusă la forma R—OH (8). Pe coloană se reține substanțele cu caracter acid (barbituricele), iar bazele (aminofenazona și prometazina) trec în eluat. Se spală coloana cu metanol pînă la completarea volumului de eluat la 250 ml în balon cotat. Se

citeşte absorbţia amestecului în cuve de 1 cm în raport cu metanolul la cele două lungimi de undă (275 şi 252 nm) la un spectrofotometru V.S.U. 2P Zeiss, Jena.

$$\text{Prometazină g/doză} = \frac{C_x \cdot V}{1000 \cdot p} \cdot \overline{M} \qquad \text{(b)}$$

unde : C_x = concentraţia (g/l) prometazinei calculată prin formula (a) ; p = cantitatea de pulbere luată în lucru (g) ; M = greutatea medie a unei doze ; V = volumul de eluat (ml).

Soluţiile — se măsoară exact 1—2 ml soluţie, se diluează cu metanol (20—30 ml) şi se aduce soluţia peste coloana R—OH anionică, procedîndu-se în continuare ca şi în cazul pulberilor, aducîndu-se volumul de eluat la 100 ml, cu metanol :

$$\text{Prometazină g/100 ml} = \frac{C_x(g/l) \cdot V}{1000 \times p} \times 100$$

unde : p = cantitatea luată în lucru (ml) ; V = volumul de eluat (ml).

Supozitoarele — excipientul gras (*butir* cacao) se îndepărtează prin dizolvarea unei cantităţi de supozitor (1 g) în eter de petrol ; după filtrarea stratului organic şi reluarea reziduului de pe filtru cu 20—30 ml metanol, soluţia obţinută se trece cantitativ peste coloana R—OH anionică şi se procedează ca şi în cazul precedent, completîndu-se volumul de eluat la 100 ml.

Pentru fiecare formulă magistrală luată în studiu s-au efectuat după stabilirea condiţiilor experimentale cîte 10 determinări. În primele două coloane ale tabelului IV sînt trecute cantităţile (g/Rp) de prometazină şi aminofenazonă, pre-

Tabelul IV

Nr. crt.	Prometazina (maleat) g/Rp	Aminofenazonă g/Rp	Media a 10 determinări $\overline{X}$	Prometazina găsit — Calcul statistic S%	e	e%	Valoarea adevărată $\overline{\overline{X}}$ (t = 2,262)
1	0,0075	0,05	0,00749	1,526	0,000036	0,482	$0,0074 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,0075$
2	0,0090	0,06	0,00899	1,677	0,000047	0,530	$0,0088 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,0091$
3	0,0150	0,04	0,00149	1,881	0,000081	0,594	$0,0147 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,0151$
4	0,0040	0,05	0,00390	1,170	0,000046	0,370	$0,0039 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,0040$
5	0,1800	3,00	0,18070	0,90	0,000516	0,285	$0,1796 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,1819$
6	0,1000	1,20	0,10080	1,87	0,000590	0,587	$0,0994 \leqslant \overline{\overline{X}} \leqslant 0,1021$

scrise în reţetă pentru o doză. În coloanele următoare sînt indicate : valorile corespunzătoare mediei aritmetice pentru cele 10 determinări, deviaţia standard (s) a unei determinări (0,9—1,88%), eroarea standard (e), eroarea faţă de media aritmetică (0,2—0,6%) şi intervalul de încredere în care se situează valoarea adevărată ($\overline{\overline{X}}$) la un prag de semnificaţie de 5% (t × 2,262).

CONCLUZII

S-a stabilit o metodă cromatografică în strat subţire, de separare şi identificare a componentelor din 6 formule magistrale, care conţin prometazină alături de barbiturice (fenobarbital, barbital şi amobarbital) şi aminofenazonă, utilizînd plăci cu silicagel G, un singur sistem de solvenţi, reactivi chimici pentru revelare, accesibili oricărui laborator.

S-a aplicat metoda spectrofotometrică în U.V. la determinarea amestecurilor binare de prometazină şi aminofenazonă, după separarea excipienţilor prin filtrare şi reţinerea componentelor cu caracter acid pe o coloană cu schimbători de ioni (Dowex 2 × 4, R-Cl). Eluatele metanolice care conţin amestecul binar prometazină-aminofenazonă se diluează la un anumit volum cu metanol şi se citesc absorbţiile la un

spectrofotometru V.S.U. 2P Zeiss, Jena, la 275 şi 252 nm, în cuve de 1 cm faţă de metanol.

Erorile procentuale obţinute pentru cele 60 de soluţii prometazină-aminofenazonă, luate în studiu se situează în limitele admise de această metodă pentru determinarea formelor farmaceutice.

BIBLIOGRAFIE

1. KRACMAR J., BLAZEK J. — *Pharmazie*, 1968, 11, 651—657. — 2. PERNAROWSKI M., KNEVEL A. M., CHRISTIAN J. E. — *J. pharm. Sci.*, 1961, 50, 943. — 3. CHO M. J., PERNAROWSKI M. — *J. pharm. Sci.*, 1970, 59, 1333. — 4. CHATEEN I. G., LOCOCK R. A., KRAUSE R. D. — *J. pharm. Sci.*, 1971, 60, 588—592. — 5. DEVILLER M. — *Ann. pharm. franç.*. 1961, 19, 131. — 6. * * * — Spécifications pour le contrôle de la qualité des preparations pharmaceutiques, O.M.S., ed. a II-a, 1967, p. 513. — 7. POGANY I., BANCIU M. — Metode fizice în chimia organică, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1972. — 8. DIBBERN W. H., SCHOLZ G. — *Arch. Pharm.*, 1965, *298*, 3, 175—184.

Articol intrat în redacţie la 17.I.1974.

Indicele de clasificare : 615:545.844

SUMMARY

Elena Curea, Mirela Martinovici — THIN LAYER CHROMATOGRAPHY AND SPECTROPHOTOMETRY IN UV LIGHT IN THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF DRUGS. III. THE DETERMINATION OF PROMETHAZINE IN DRUG MIXTURES

Thin layer chromatography was used for the separation and identification of the components in some pharmaceutical products (powders suppositories, solutions) containing promethazine next to aminophenazone and barbiturates (phenobarbital, amobarbital), using silicagel G plaques, a hexane-diethyl-amino-ethylic alcohol (2.5—0.50—1.0) solvent system and chemical developers.

Promethazine was determined quantitatively by spectrophotometry in UV light in a binary mixture of aminophenazone after separation of the excipients and retention of the acid components on an ion exchange column (Dowex 2×4). The metabolic eluates containing the promethazine-aminophenazone mixture was analyzed by spectrophotometry at 275 and 252 nm in 1 cm cells against methanol. The method may be applied within the limits of 1—25 μg/ml promethazine and 0.5—35 μg/ml aminophenazone concentrations, the standard deviation being $< 2\%$.

РЕЗЮМЕ

Елена Куря, Мирела Мартинович — ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ В УФ ПРИ КАЧЕСТВЕННОМ И КОЛИЧЕСТВЕННОМ АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. СООБЩЕНИЕ III. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОМЕТАЗИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СМЕСЯХ

При помощи метода тонкослойной хроматографии авторы выделили и идентифицировали компоненты некоторых аптечных препаратов (порошки, суппозитории, растворы) — содержащих прометазин наряду с аминофеназоном и барбитуровыми препаратами (фенобарбитал, амобарбитал), применеяя пластинки силикагеля Г системы растворителей: гексан — диетил — амин — этиловый алкоголь (2,5—0,50—1,00) и химические реактивы для проявлениях.

Количественное определение прометазина осуществлялось при помощи спектрофотометрического метода в ультрафиолетовом спектре, в бинарной смеси с аминофеназоном после отделения связывающих веществ и задержания компонентов в кислого характера на ионообменной колонке (Dowex 2×4). Метаболические элуаты, содержащие смесь прометазина с аминофеназоном спектрофотометрировались при 275 и 252 nm в ванночках 1 см в отношении этанола. Метод может быть применен в пределах концентрации 1—25 μg/мл прометазина и 0,5 — 35 μg/мл аминофеназона, причем стандартное отклонение определения не превышает 2 %.

Modificări ale nucleului interfazic sub acțiunea unor substanțe citostatice tiazolice (cercetări electronomicroscopice)

Ecaterina Andronescu, Simona Silberg, A. Radu

Catedra de botanică farmaceutică și chimie organică, I.M.F. Cluj-Napoca

REZUMAT *S-au studiat electronomicroscopic acțiunea unor derivați tiazolici de tip alchilant asupra nucleului interfazic din celula vegetală* (Triticum vulgare L.).

Rezultatele obținute arată intervenția substanțelor tiazolice în metabolismul nucleului interfazic. Compușii luați în studiu produc modificări ultrastructurale profunde traduse prin: modificări ale volumului nuclear; tulburări ale distribuției cromatinei nucleare; vacuolizarea citoplasmei.

Toate aceste modificări demonstrează intervenția activă a compușilor tiazolici în metabolismul acizilor nucleici, influențînd dezvoltarea celulelor.

Studiile întreprinse în ultimul timp cu privire la mecanismul de acțiune al agenților alchilanți asupra celulei normale și canceroase (2) au dus la concluzia că această grupă de citostatice are ca punct de atac ADN, prin blocarea sintezei sale în momentul interfazei.

Pornind de la aceste date, ne-am propus să urmărim cu ajutorul electronomicroscopiei modificările ultrastructurale de la nivelul nucleului intercinetic, produse de o serie de noi compuși tiazolici de tip alchilant (9) (tabelul I).

MATERIAL ȘI METODĂ

Selecționarea substanțelor tiazolice luate în cercetare s-a făcut pe baza unor studii în cadrul cărora acestea s-au dovedit a avea un potențial citostatic ridicat și o toxicitate redusă (1).

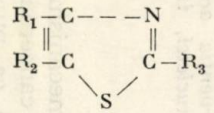
Rezultatele studiilor noastre ne-au arătat că acțiunea citostatică a unor compuși tiazolici se manifestă la diverse niveluri de organizare a celulei (nucleu, nucleol etc.) și asupra unor fenomene vitale esențiale (respirație, mișcare intracelulară, creștere).

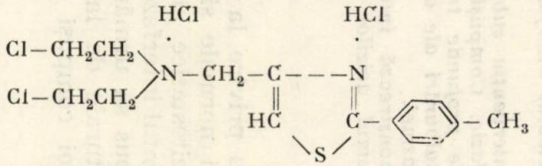
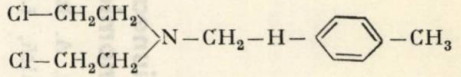
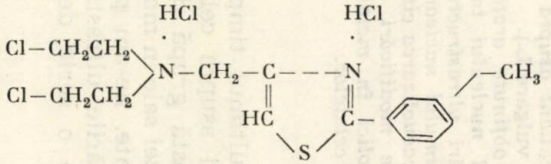
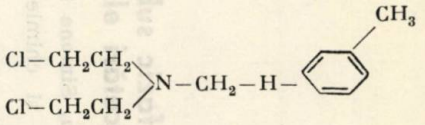
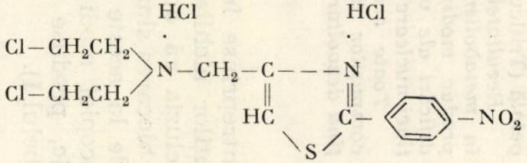
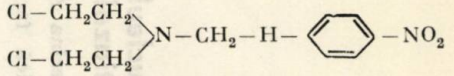
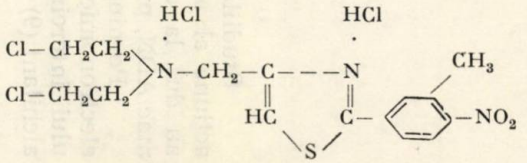
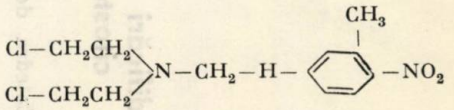
Luînd în considerare similititudinea infrastructurală dintre celula animală și cea vegetală (5), s-au folosit plantule de *Triticum vulgare* L germinate în condiții normale de laborator. Rădăcina plantulelor a fost folosită în condiții bine determinate de temperatură, pH, concentrație a soluțiilor, maturitate.

Fragmente de vîrfuri radiculare (0,5—1 mm) au fost prelucrate în paralel cu radicule ale plantulelor martor. Fixarea s-a făcut cu acid

Tabelul I

Tabloul sinoptic al compuşilor studiaţi



Diclorhidrat de 2-(p-tolil)-4-bis-2′-cloretil)-aminometil-tiazol		
Diclorhidrat de 2-(m-tolil)-4-bis-(2′-cloretil)-aminometil-tiazol		
Diclorhidrat de 2-(p-nitro-fenil)-4-bis-(2′-cloretil)-amino-metil-tiazol		
Diclorhidrat de 2-(2′-metil-3′-nitrofenil)-4-bis-(2-cloretil)-amino-metil-tiazol		

Diclorhidrat de 2-(p-bromfenil)-4-bis-(2'-cloretil)-amino-metil-tiazol	
Clorhidrat de 2-fenil-4-bis-(2'-cloretil)-amino-metil-5-clor-tiazol	
Clorhidrat de 2-(p-bromfenil)-4-bis-(2'-cloretil)-amino-metil-5-clor-tiazol	

osmic 2% în tampon fosfat adusă la un pH 7,2—7,4, în condiții de temperatură stabilite. Probele deshidratate în seria de alcool (30, 50, 70, 80, 90, 100% alcool etilic) au fost apoi incluse în propilen araldită după tehnica Buvat. Colorarea s-a făcut cu permanganat de potasiu. Secțiunile au fost executate la ultramicrotomul Porte-Blum și apoi depuse pe grile acoperite cu o membrană de *formwar*.

Interpretarea secțiunilor s-a făcut cu ajutorul microscopiei electronice.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Cercetările asupra modificărilor ultrastructurale provocate de substanțe citostatice asupra nucleului interfazic sînt reduse și neconcludente, în special asupra nucleului interfazic vegetal.

Referitor la ultimul aspect cît și la interacțiunea acestor compuși tiazolici și celula vie nu s-au găsit date în literatura de specialitate.

Pornind de la considerentele enunțate anterior cu privire la intervenția substanțelor citostatice în replicarea moleculei de ADN, am căutat să urmărim modificările ultrastructurale determinate de tulburările metabolice sub acțiunea derivaților tiazolici citați.

Examenul preparatelor electronomicroscopice a secțiunilor netratate (martor) au arătat aspecte cunoscute, de ultrastructură a nucleului interfazic, care pot fi urmărite în figura 1.

În preparatele noastre, la celulele tratate cu deri-

vații tiazolici se constată alterarea acestor ultrastructuri, alterare care este progresivă în funcție de factorul concentrație.

La o concentrație mai redusă (0,1) se observă o reducere discretă a volumului nuclear, în raport cu martorul. Se mai semnalează în special o repartizare destul de neomogenă a cromatinei, producîndu-se

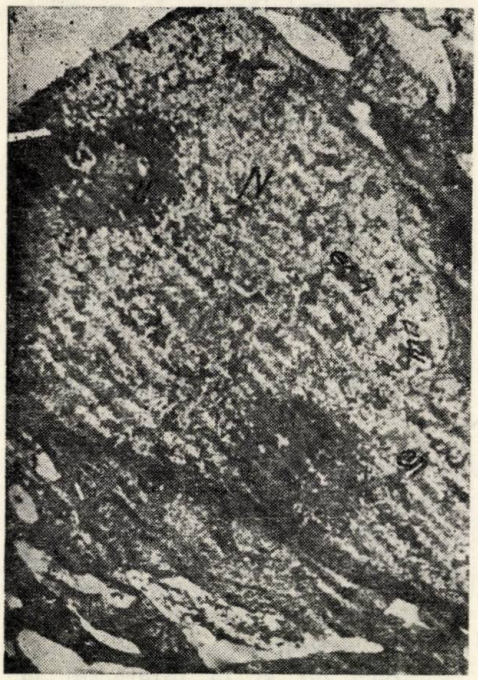


Fig. 1. — Aspectul normal al nucleului interfazic, în celulele meristematice de *Triticum vulgare* :

N — nucleu ; n —nucleol ; mn — membrană nucleară ; ch — heterocromatină ; ech — eucromatină (12 000×).

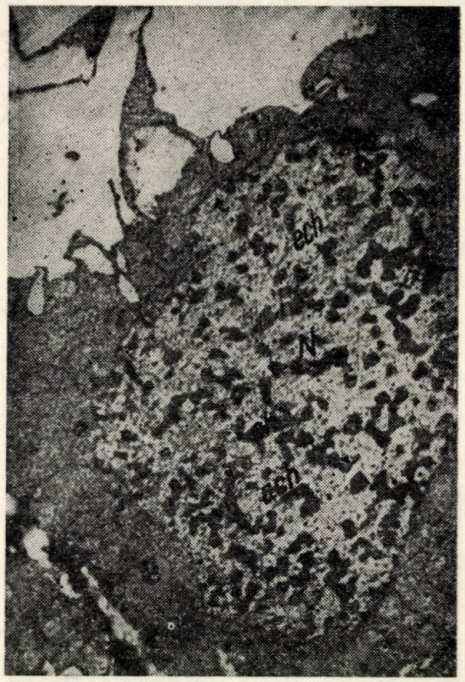


Fig. 2. — Reducerea în volum a nucleului interfazic și condensare incipientă de cromatină în celulele de *Triticum vulgare* sub acțiunea derivaților tiazolici la concentrațiile de 0,1‰ :

N — nucleu ; mn — membrană nucleară ; ch — heterocromatină ; ech — eucromatină (12 000×).

concentrări de elemente fibrilare și granulare, aspecte care reprezintă condensări ale heterocromatinei, comparativ cu zonele clare de eucromatină (fig. 2).

Examenul electronomicroscopic la o concentrație mai mare (0,5) evidențiază o reducere treptată și o deformare consecutivă a nucleului, asociată cu o reducere treptată a conturului. Gruparea neomogenă a cromatinei nucleare duce tot mai evident la o mărire excesivă a contrastului, ajungîndu-se la aglomerări de heterocromatină în mase compacte și la reducerea zonelor clare a eucromatinei (fig. 3).

După datele din literatură, formele de agregare laxă sau în structuri compacte ale cromatinei determină realizarea celor două funcții ale nucleului : metabolică și genetică. Aceste două forme de prezentare a cromatinei, heterocromatina (alcătuită din agregate de fibrile sub formă de benzi ce apar dense la fluxul de electroni) și eucromatina (ale cărei fibrile sînt distribuite într-o textură fină, laxă, puțin densă la fluxul de electroni), implică în același timp și diferențe de funcții

ale cromatinei nucleare. Astfel, regiunile condensate ale cromatinei, vizibile în interkineză reprezintă heterocromatina metabolic inertă, în timp ce zonele mai deschise (palide) reprezintă eucromatina metabolic activă.

Pe baza acestor considerente, noi apreciem că modificările pe care le evidențiază preparatele noastre (mase compacte de heterocro-

Fig. 3. — Aglomerarea heterocromatinei în mase compacte în nucleul interfazic din celulele meristematice de *Triticum vulgare* sub acțiunea derivaților tiazolici la concentrația de 0,5‰ :

N — nucleu ; n — nucleol ; ch — heterocromatină ; ech — eucromatină ; v — vacuole (12 000×).

Fig. 4. — Vacuolizări masive în citoplasma care confluează și deformează nucleul interfazic sub acțiunea derivaților tiazolici :

N — nucleu ; n — nucleol ; ch — heterocromatină ; ech — eucromatină ; v — vacuole (12 000×).

matină și eucromatina extrem de limitată) denotă o activitate metabolică redusă a nucleului interfazic datorită acțiunii alchilante a substanțelor noastre tiazolice.

Sprijinindu-se pe ipoteza citochimică (3, 4) care arată natura dezoxiribonucleoproteică a fibrilelor componente ale cromatinei intercinetice, credem că aspectele ultrastructurale obținute de noi sînt și expresia blocării sintezei ADN datorită intervenției active a derivaților tiazolici în perioade de maximă activitate metabolică a nucleului.

Pe lîngă tulburările din interiorul nucleului, preparatele noastre arată apariția a numeroase vacuole (fig. 4) în masa citoplasmei, care cu timpul confluează și împing nucleul deformîndu-l, fenomen care reprezintă probabil o metabolizare intensă de către celulă a substanței de cercetat.

Aceleași modificări ultrastructurale se pot observa și în structura nucleolului, dar mult mai reduse.

CONCLUZII

1. Derivaţii tiazolici produc modificări profunde ale ultrastructurii nucleului intercinetic.

2. Cercetările au arătat că mecanismul de acţiune al acestor substanţe este în funcţie de concentraţie şi se caracterizează prin : modificări ale volumului nuclear, tulburări ale distribuţiei cromatinei nucleare şi prin vacuolizara citoplasmei.

Aceste rezultate argumentează în acelaşi timp ipoteza intervenţiei substanţelor de tip alchilant în procesele metabolice cele mai intense ale ciclului mitotic — interfaza —, împiedicînd replicarea moleculei de ADN.

3. Ele demonstrează în acelaşi timp valoarea celulei vegetale în aprecierea acţiunii substanţelor citostatice şi în determinarea mecanismelor de acţiune.

BIBLIOGRAFIE

ANDRONESCU E. — Valoarea testului fitobiologic în evaluarea activităţii unor substanţe biologic active. Teză de doctorat, Universitatea Babeş-Bolyai, Cluj, 1972. — BROOKES P., LAWLEY P. O. — The reaction of Mono und bifunctional Alkylating Agents with Nucleic Acids, *Biochem. J.*, 1961, 80, 496—521. — DICULESCU I., ONICESCU D., RÎMNICEANU C. — Histologie, vol. I, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1970, 59—175. — NOUGARÈDE A. — Biologie végétale, vol. I, Ed. Masson, Paris, 1969, p. 383—466. — POLICARD A., BRYSSIS M. — La biologie moleculaire et l'histo-pathologie, *Presse méd.*, 1960, 68, 1 307. — ROBERTIS D. P., NOWINSKI W. W., FRANCISCO A., SAEZ A. F. — General Cytology, ed. a III-a, Londra, 1961. — SAUKARANARAYAN K., HYDE B. — *J. Ultrastruct. Res.*, 1965, 12, 748.752. — SCHOEFL G. — The effect of Actinomycine on the fine structure of the Nucleolus, *J. Ultrastruct. Res.*, 1964, 10, 224—228. — SIMITI I., SILBERG S. — Derivaţi tiazolici de azotiperită, Comunicare la sesiunea ştiinţifică a I.M.F. Cluj, 1965. — THOMAS J. A. — Problèmes d'ultrastructures et de fonctions nucléaires, Ed. Masson, Paris, 1959, p. 159—165.

Articol intrat în redacţie la 13.XII.1973.

Indicele de clasificare : 615.771.7—092.258:537.533.35

SUMMARY

Ecaterina Andronescu, Simona Silberg, A. Radu — CHANGES IN THE INTERPHASE NUCLEUS UNDER THE ACTION OF THIAZOL CYTOSTATICS (INVESTIGATIONS IN THE ELECTRON MICROSCOPE)

A study was carried out in the electron microscope on the action of certain thiazol derivatives of the alkylating type on the interphase nucleus of plant cells (Triticum vulgare L.). The substances studied alter the metabolism of the interphase nucleus, bringing about deep ultrastructural changes : in the size of the nucleus, the distribution of nuclear chromatin and vacuolization of the cytoplasm. These alterations demonstrate the active intervention of the thiazol components in nucleic acid metabolism, influencing the development of the cells.

РЕЗЮМЕ

Екатерина Андронеску, Симона Зильберг, А. Раду — ИЗМЕНЕНИ ИНТЕРФАЗОВОГО ЯДРА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НЕКОТОРЫХ ЦИТОСТАТИЧЕСКИХ ТИАЗОЛОВЫХ ПРЕПАРАТОВ (ЭЛЕКТРОНОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ)

Авторы при помощи электронного микроскопа исследовали действие некоторых алкилирующего типа тиазоловых производных и интерфазовое ядро растительной клетки (Triticum Vulgare L.). Полученные результаты указывают на действие тиазоловых веществ в рамках метаболизма интерфазового ядра. Исследованные производные вызывают глубокие ультраструктурные изменения, проявляющиеся изменениями объема ядра, расстройствами распределения ядерного хроматина, вакуолизацией цитоплазмы. Все эти изменения доказывают активное участие тиазоловых производных в метаболизме нуклеиновых кислот, в форме влияния на развитие клеток.

Contribuții la studiul analitic al alcaloizilor. VI. O nouă metodă de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale

Gh. Morait, V. Turculeț

Laboratorul de chimie analitică, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *Ionul de zinc, avînd o structură electronică periferică pseudosaturată (18 electroni), o rază ionică de 0,74 Å și două sarcini electrice, prezintă afinități pentru atomii de azot, carbon și sulf, ceea ce determină capacitatea de a forma combinații complexe sau precipitate cu reactivi care conțin acești atomi (afinitatea pentru electroni K în soluții apoase este de 135, relativ mare, iar caracteristica electrostatică este 5,40).*

Chinina are în molecula sa atomi bazici de azot dintre care azotul din nucleul chinuclidinic cu o funcție mai puternică ($K_{b1} = 1 \cdot 10^{-6}$), constituie un reactiv pentru ionul Zn^{2+} sau mai exact pentru complexul $[Zn(SCN)_4]^{2-}$.

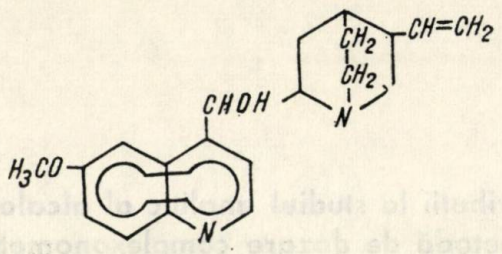
Îmbinînd proprietățile celor două substanțe Zn^{2+} și chinină, manifestate în prezența ionilor SCN^-, cînd se formează un precipitat greu solubil, alb, s-a stabilit o nouă metodă de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale, care în principiu constă în precipitarea chininei cu tetratiocianatozincat (II); după izolarea precipitatului din mediul de formare și purificare se dizolvă în acid și se determină de asemenea excesul de Zn^{2+} folosit la precipitare, lucrîndu-se în comparație cu o probă în alb, cu ajutorul unei soluții de complexon III, în prezența negrului de eriocrom T, la pH 9—10.

S-au determinat: sensibilitatea reacției, solubilitatea precipitatului, spectrul infraroșu pentru a constata eventualele legături de tip covalent sau ionic și comportarea termică etc.

Metoda stabilită este exactă, reproductibilă (necesită un exces mai mic de reactiv de precipitare) și prezintă și un caracter de specificitate pentru acest alcaloid.

Chinina, substanță izolată din scoarța arborelui de cinchona de Pelletier și Caventon, constituie alcaloidul principal din plantele ce aparțin genului *Cinchona* și *Remijia*. În structura moleculară a acestui

alcaloid, așa cum s-a arătat prin metodele chimice destructive, cît și prin sinteza realizată în 1944 de R. B. Woodward și N. von E. Doering, intră atît nucleul chinolinic, cît și cel chinuclidinic :



Prezența celor doi atomi de azot heterociclici din nucleul chinuclidinic ($K_{b1} = 1.10^{-6}$) și din nucleul chinolinic ($K_{b2} = 1{,}3.10^{-10}$) fac ca această substanță să prezinte caracterul bazic, putîndu-se protona dublu formînd săruri cu diverși acizi, de diferite aciditați. Tăria atît de diferită a celor două funcții bazice din molecula chininei face ca și sărurile acesteia să aibă o comportare diferită (de exemplu, clorhidratul de chinină $C_{20}H_{24}O_2N_2.HCl.2H_2O$ are o reacție neutră, pe cînd dichlorhidratul de chinină $C_{20}H_{24}O_2N_2.2HCl$, o reacție acidă).

Aceste funcții bazice au fost titrate acido-bazic, mai ales în mediu anhidru, de diverși cercetători (1—6).

Rezultatele prezentate de autori înregistrează o serie de variații, apar o serie de neconcordanțe mai ales datorită anionului diferit din săruri, care influențează determinările în medii anhidre. De aceea am căutat să înlăturăm aceste inconveniente.

Pentru aceasta am luat în studiu într-o serie de lucrări (7, 8), influența solvenților asupra polarității sărurilor. În același timp am căutat să folosim o proprietate a chininei și sărurilor sale care să permită izolarea lor dintr-un mediu complex. Ne-am oprit la proprietatea acestora de a forma, în mediu acid, cu tiocianatozincatul (II) de amoniu sau alcalin, compuși foarte greu solubili.

Întrucît această reacție ridică o serie de probleme legate de însăși natura compusului ce se formează, am căutat să precizăm dacă se formează o sare conform ecuației chimice :

$$2\,[C_{20}H_{24}O_2N_2H]^+ + [Zn\,(SCN)_4]^{2-} = [C_{20}H_{24}O_2N_2H]_2 \cdot [Zn\,(SCN)_4]$$

sau dacă iau naștere complecși în care molecula chininei se leagă coordinativ de ionul Zn^{+2}, intrînd în sfera internă a complexului, ca de exemplu

$$[Zn\,(C_{20}H_{24}O_2N_2)_2\,(SCN)_2]$$

Totodată am determinat sensibilitatea reacției, în funcție de anumite condiții de lucru.

Este de menționat că din o serie de complecși tiocianatocationici (în care cationul central este : Co^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+} etc.), ionul complex $[Zn\,(SCN)_4]^{2-}$ prezintă cea mai accentuată tendință de a forma cu chinina compuși greu solubili. Sensibilitatea reacției este de ordinul 1 : 100 000 ; o sensibilitate mai mică se observă pentru complexul $[Hg\,(SCN)_4]^{2-}$ care este de 1 : 16 000. Ionul tiocianat formează, în

soluții concentrate, compuși greu solubili, dar sensibilitatea reacției este mică 1 : 200, ceea ce exclude posibilitatea fenomenului de interferență în operațiile de dozare.

Reactivul $[Zn\ (SCN)_4]^{2-}$ prezintă o sensibilitate relativ mare și față de chinidină (1 : 50 000) și cinconină (1 : 25 000), precum și față de alți alcaloizi (de exemplu, papaverina), așa cum am arătat într-o altă lucrare (9).

Pentru elucidarea acestor aspecte s-au preparat precipitate prin tratarea soluțiilor de săruri de chinină cu tetratiocianatozincatul (II)

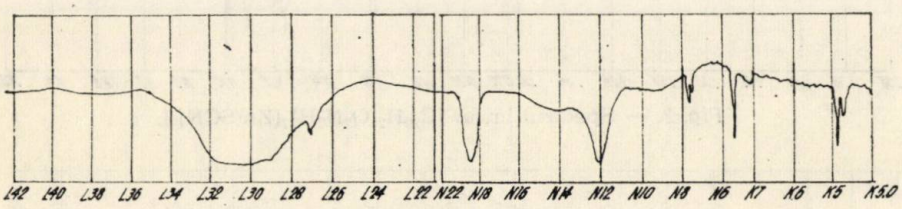


Fig. 1. — Spectrul i.r. al NH_4SCN.

alcalin sau de amoniu și după purificare și uscare s-au determinat spectrele i.r. ale compușilor formați, folosind un spectrofotometru U.R. 10 Zeiss, Jena, în domeniul spectral 500—3 500 cm^{-1}, pe substanță în stare solidă, inclusă în bromură de potasiu.

Spectrele compușilor obținuți s-au comparat cu spectrele tiocianaților alcalini și de amoniu, cu ale chininei și sărurilor sale, precum și cu datele din literatura de specialitate.

Este cunoscut faptul că spectrul de absorbție în i.r. al tiocianaților alcalini prezintă trei benzi caracteristice: la 470 cm^{-1} ($\delta C—S$), la 748 cm^{-1} ($\nu C = S$) și la 2 066 cm^{-1} ($\nu C = N$) (fig. 1).

Diferiți cercetători (10—13) au stabilit că frecvența valenței $C = S$ are valori diferite pentru cele două modificații izomere ale ionului tiocianat, Turco și Pecile dînd pentru M—SCN 690—720 cm^{-1}, iar pentru M—NCS 780—860 cm^{-1}, vibrațiile de deformare $\delta\ C = S$ pentru tiocianați fiind 410—440 cm^{-1} și pentru izotiocianați 460—490 cm^{-1}.

W. A. Baker și colab. (14), A. I. Sabatini și colab. (15) consideră că atunci cînd gruparea este legată de cationul central prin atomul de azot, frecvența vibrației $C = N$ este cuprinsă între 2 040 și 2 090 cm^{-1}, iar cînd este legată prin atomul de sulf prezintă valori mai mari, cuprinse între 2 070— și 2 120 cm^{-1}.

În compușii studiați, benzile de absorbție caracteristice pentru vibrațiile $\nu\ C = S$, $\delta\ C—S$ și $\nu\ C = N$ apar, producîndu-se ușoare deplasări. Astfel, banda de la 2 248 este ușor deplasată la 2 080 cm^{-1}, iar benzile de la 748 cm^{-1} deplasată la 720 cm^{-1}, ceea ce permite să tragă concluzia prezenței grupărilor SCN în complecși obținuți, legate prin sulf. De asemenea, absorbțiile caracteristice chininei sînt prezente în totalitate în spectrul compușilor obținuți, fără modificări. Pe baza acestor date spectrale, coroborate cu cele ale analizei cantitative, se poate afirma că la un ion Zn^{2+} se leagă ionii protonați ai chininei de ionul $[Zn\ (SCN)_4]^{2-}$, la un ion complex corespunzînd două molecule de chinină.

Folosind aceste combinații în scopurile analizei cantitative, am reușit să stabilim noi metode de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale.

Metoda complexonometrică a găsit o serie de aplicații la dozarea alcaloizilor (16—23).

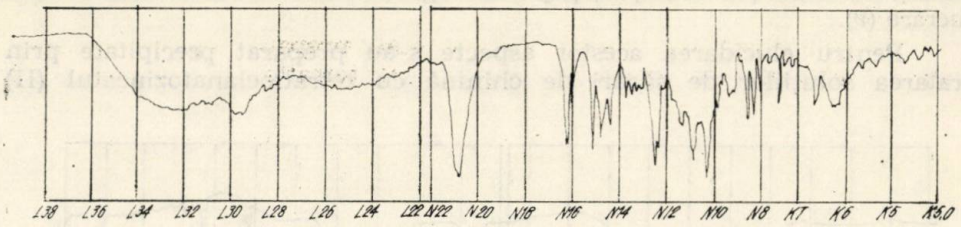


Fig. 2. — Spectrul i.r. al $[C_{20}H_{24}O_2N_2H]_2[Zn(SCN)_4]$.

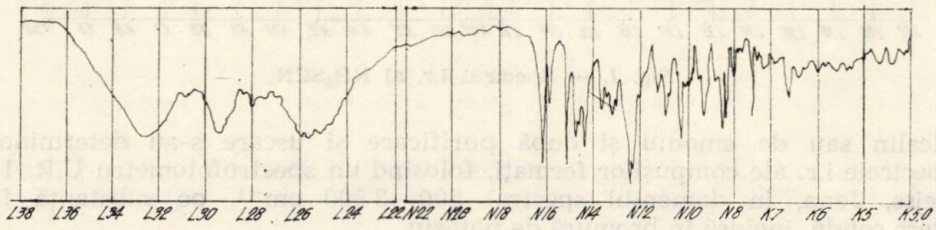


Fig. 3. — Spectrul i.r. al clorhidratului de chinină.

REACTIVI FOLOSIȚI

— Soluție ~ 0,2 m de $(NH_4)_2[Zn(SCN)_4]$. Se dizolvă 58 g $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ și 61 g NH_4SCN, după care se completează la 1000 ml cu apă bidistilată.

— Soluție complexon 0,05 și 0,01 m.

— Soluție tampon NH_4Cl/NH_3, care se prepară din 70 g NH_4Cl dizolvate în 500 ml apă distilată, se adaugă 570 ml soluție concentrată NH_3, după care se completează la 1 000 ml cu apă bidistilată.

— Negru de eriocrom T în amestec cu clorură de sodiu 1%.

— Acid clorhidric diluat.

TEHNICA METODEI

Se cîntărește la balanța analitică o probă de sare de chinină, se trece cantitativ într-un balon cotat (pentru baloane de 50 ml se cîntăresc probe de 0,3—0,4 g), se adaugă cîteva picături de acid clorhidric, și se dizolvă, după care se adaugă 30—40 ml soluție de tetratiocianatozincat (II) de amoniu, aproximativ 0,2 ml, după care se completează la semn cu apa bidistilată. Se agită bine, se lasă în repaus cîteva minute, apoi se separă precipitatul prin filtrare, folosind un filtru cantitativ, se aruncă primii 5—10 ml. Din filtrat se iau probe de 15—30 ml, se adaugă 4—5 ml soluție tampon, cîteva mg indicator și se titrează Zn^{2+} cu soluția de complecsonă III pînă la virajul indicatorului. Se notează cu A volumul de soluție de complexon folosit.

Într-un alt balon cotat, cu aceeași capacitate, se prepară o soluție martor (probă în alb), adăugînd aceeași cantitate de soluție de reactiv și completînd la volum cu apă distilată. Din această soluție se iau volume egale, de 15—30 ml, se adaugă 4—5 ml soluție tampon și indi-

cator (în aceeași cantitate), după care se titrează cu soluția de complexon III, pînă la virajul indicatorului. Se notează cu B soluția de complexon III folosită pentru proba martor.

Diferența B—A reprezintă cantitatea de soluție complexon III corespunzătoare ionului Zn^{2+}, care a fost legat în precipitatul format cu chinina.

În calcul se ține seama că 1 mol precipitat conține 2 moli de chinină. O parte din rezultate sînt prezentate în tabelul I.

Tabelul I

Rezultatele obținute la dozarea complexonometrică a clorhidratului de chinină

Substanță dizolvată (g)	Volumul balonului cotat	Găsit la dozare		Eroare față de M
		(g)	(%)	
1,5685	250	1,5679	99,95	+0,07
1,1614	250	1,1602	99,89	+0,01
1,4732	250	1,4717	99,89	+0,01
0,4875	100	0,4868	99,88	0,00
0,6047	100	0,6036	99,82	−0,06
0,5889	100	0,5879	99,83	−0,05
0,3641	50	0,3637	99,89	+0,01
0,3465	50	0,3461	99,88	0,00
0,3858	50	0,3852	99,84	−0,04
0,3526	50	0,3541	99,85	−0,03

$n = 10$; $M = 99,88$; $s = 0,04$; $s_m = 0,012$;
$\alpha = 0,95$; $t_\alpha = 2,26$; $A = 99,88 \pm 0,03$

CONCLUZII

S-a stabilit o nouă metodă de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale, metodă avînd drept caracteristică faptul că folosește o reacție foarte sensibilă. Precipitatul format are o compoziție unitară, este microcristalin și are o solubilitate redusă.

Erorile sînt mici, încadrîndu-se în limita erorilor volumetrice.

Reacția care stă la baza metodei prezintă un caracter de selectivitate față de unii alcaloizi, ca de exemplu alcaloizii purinici, care nu precipită cu acest reactiv în aceleași condiții.

Precipitatul format se poate separa ușor, iar determinarea zincului prin metoda complexonometrică se face ușor și cu precizie.

BIBLIOGRAFIE

1. FELTKAMP H. — *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 1961, 101, 207. — 2. RINK M., LUX R., RIEMHOFER — *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 1960, 100, 1 231. — 3. CHATTEN L. G. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1955, 7, 586. — 4. SALVESEN B. — *Med. norsk. farm. Selsk.*, 1961, 23, 141. — 5. VACEK J., KRACMAR J. — *Cs. Farm.*, 1956, 5, 80. — 6. HÄDICKE M., HOWORKA K. — *Pharm. Zentralh.*, 1961, 100, 3. — 7. MORAIT GH. — *Farmacia (Buc.)*, XVIII, 5, 1970, 237. — 8. MORAIT GH. — *Farmacia (Buc.)*, 1972, 6, 339. — 9. TURCO A., PECILO L. — *Nature*, 1961, 191, 66. — 10. MICHELL P. C. H., WILLIAMS R. J. — *J. Chem. Soc.*, 1960, 1912. — 11. LEWIS J., NYHOLM R. S., SMITH P. W. — *J. Chem. Soc.*, 1961, 4590. — 12. BASOLO F., BURMEISTER J. L. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, 85, 1700. — 13. BAKER W. A., JONES G. J., MARK M., CHEMBERLAIN J., BAILOV C. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1959, 81, 64. — 15. SABATINI A. I., BERTINI I. — *Inorg. Chem.*, 1965, 4, 959. — 16. BUDESINSKY B., VANICKOVA E. — *Cs. Farm.*, 1956, 5, 4, 77. — 17. OCHYNSKA J., KROWAZYNSKI J. — *Chem. An. Warsaw.*, 1959, 4, 309. — 18. OCHYNSKA J. — *Chem. An. Warsaw.*, 1961, 6, 2, 261. — 19. MO-

RAIT GH., COADĂ M., TURCULEȚ V., CIOGOLEA GH. — *Farmacia (Buc.)*, 1964, *XIII*, 9, 521. — 20. BLAGOJEVIC Z., BRADIC P., BUNOVIC M. — *Schweiz.-Apoth.-Ztg.*, 1960, 98, 654. — 21. PFEIFER D. — *Pharmazie*, 1964, 19, 630. — 22. ZAITEV I. A. — *Apt. Delo*, 1963, 12, 4, 45. — 23. MORAIT GH. — Teză de doctorat, I.M.F. București, 1969. — 24. FÜLOP L., VEREPH J., MARTONFI L. — *Farmacia (Buc.)*, 1963, 11, 304.

Articol intrat în redacție la 24.IV.1974. Indicele de clasificare: 615.751.2—015.13

SUMMARY

Gh. Morait, V. Turculeț — CONTRIBUTIONS TO THE ANALYTICAL STUDY OF ALKALOIDS. VI. A NEW METHOD FOR THE COMPLEXOMETRIC DETERMINATION OF QUININE AND ITS SALTS

Zinc ion, having a pseudosaturated peripheral electronic structure (18 electrons), an ionic radius of 0.74 Å and two electric charges, presents affinities for nitrogen, carbon and sulphur atoms and is thus able to form complex combinations or precipitates with reactants containing these atoms (the affinity for K electrons in aqueous solutions is 135, relatively high, and the electrostatic characteristic 5.40).

Quinine has in its molecule basic nitrogen atoms; the nitrogen atom in the quinnuclidin nucleus with a powerful function ($K_{b1} = 1 \cdot 10^{-6}$) forms a reactant for Zn^{2+} or more exactly for the $[Zn(SCN)_4]^{2-}$ complex.

By combining the properties of Zn^{2+} and quinine, manifested in the presence of SCN^- ions, when a white difficulty soluble precipitate forms, a new complexometric method was developed for the determination of quinine and its salts, consisting in principle in the precipitation of quinine with tetrathiocyanatozincate (II); after isolation of the precipitate and purification it is solved in acid and the excess Zn^{2+} is likewise determined by using the precipitate, working comparatively with a blanc sample and a complexon III solution in the presence of eryochrome T black, at pH 9—10.

The following were determined: sensitivity of the reaction, solubility of the precipitate, infrared spectrum in order to establish eventual covalent or ionic bonds and thermal behaviour, ecc.

The method proved accurate, reproducible (necessitates a small precipitate excess) and specific of this alkaloid.

РЕЗЮМЕ

Г. Мораит, Б. Туркулец — К ВОПРОСУ АНАЛИЗА АЛКАЛОИДОВ. СООБЩЕНИЕ VI. НОВЫЙ МЕТОД КОМПЛЕКСОНОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИНИНА И ЕГО СОЛЕЙ

Ион цинка, обладающий периферической сложнонасыщенной электронной структурой (18 электродов), ионобвым облучением — 0,74 Å и двумя электрическими зарядами обладает афинитетом в отношении атомов азота, углерода и серы, что обусловливает его способность образовывать комплексные соединения или преципитаты с реактивами, содержащими эти атомы (аффинитет в чтношении электронов К в водных растворах является сравнительно высоким — 135 Å, а электростатическая его характеристика равна 5,40).

В молекуле хинина содержатся основные атомы азота среди которых имеется азот хинолидинового ядра с более сильной функцией ($K_л — 1.10^{-6}$), представляе собой реактив для и она цинка или — точнее — для комплекса $[Zn(SCN)_4]^{2-}$.

Сочетая свойства этих двух веществ — цинка и хинина — прчявляющихся в присутствии ионов Zn^{2+}, когда образуется белого цвета труднорастворимый преципитат, был разработан новый метод комплексонометрического определения хинина и его солей и этот метод в принципе представлен осаждением хинина в тетрацианате цинка (II); после отделения преципитата из среди его образования и после его очистки, он растворяется в кислоте и определяется излишек Zn^{2+}, применяемый для осаждения, и в то же время для сравнения приготовляется проба белого цвета при помощи раствора комплексона III в присутствии черного эриохрома Т при pH = 9,0—10,0.

Определялись: чувствительность реакции, растворимость преципитата, инфракрасный спектр для обнаружения возможных связей ковалентного и ионового типа, а также и термические условия и т.д. Предлагаемый метод является точным, воспроизводимым — требует меньшего излишка реактива для осаждения и является специфическим для этого алкалоида.

Noi derivați din seria 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu activitate biologică

D. Oțeleanu, Maria Agnes Dimitriu

Laboratorul de industria medicamentelor, Facultatea de farmacie, I.M.F. București

REZUMAT *S-au sintetizat 16 compuși noi, necitați în literatura de specialitate, din clasa 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol, ca urmare a tautomerizării în formă aminică a 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor folosiți în reacția de condensare cu p-toluen-sulfoclorură, în piridină anhidră și la zero grade.*

Studiul spectrofotometric în infraroșu a confirmat și pe această cale structura noilor compuși sintetizați.

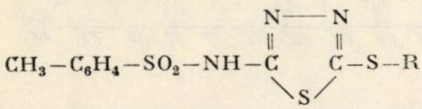
Se prezintă unele relații între structura chimică și activitatea biologică, ca urmare a testării orientative a activității antimicrobiene și hipoglicemiante (farmacologic și enzimologic).

Într-o lucrare anterioară (1), am prezentat o serie de noi compuși din clasa 2,3-Di-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor, preparați în scopul obținerii unor noi produși cu eventuală acțiune hipoglicemiantă.

Cu această ocazie, ne-am referit și la considerentele care ne-au determinat să abordăm această temă.

În cadrul cercetărilor noastre, am obținut prin condensarea 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor sintetizați de noi (2) cu p-toluen-sulfoclorură, atît disulfamide, cît și monosulfamide, în funcție de condițiile diferite de lucru, în deplină concordanță cu datele din literatură (3—8).

Bazați pe aceste rezultate, în această lucrare ne-am preocupat de sinteza 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu activitate biologică, avînd formula generală :



$R = -CH_3,\ -C_2H_5,\ -C_3H_7$ etc.

Aceste substanțe au fost obținute prin reacția dintre 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor și p-toluen-sulfoclorură, în mediu de piridină anhidră și la 0°C, ca rezultat al tautomerizării în formă aminică a 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolului.

În proporție de 1 mol amină cu 1,2 moli p-toluen-sulfoclorură, în condițiile enunțate, am obținut monosulfamide ; condensarea la cald, tot în piridină anhidră, în raport echimolecular aminoarilsulfoclorură, conduce la un amestec de mono- și disulfamide, iar pe măsură ce temperatura crește, se mărește și procentul de disulfamide obținut.

Cînd am tratat 1 mol amină cu 2 moli sulfoclorură, în același mediu de piridină și am încălzit la reflux, au rezultat numai disulfamide.

Am preparat monosulfamide, atît prin condensarea directă a 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu p-toluen-sulfoclorură în mediu de piridină anhidră, cît și prin hidroliza disulfamidelor : compușii preparați pe cele două căi sînt identici. Am stabilit astfel condițiile exacte în care are loc hidroliza acestor disulfamide. Remarcăm că am obținut randamente mai mari prin condensarea directă în piridină.

Am sintetizat astfel un număr de 16 compuși din seria 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor, pe care nu i-am găsit citați în literatură, produși ce sînt prezentați în tabelul I, unde sînt trecute randamentele, punctele de fuziune și solventul de cristalizare, ca și rezultatele de la microanaliza azotului și sulfului.

Produșii obținuți sînt insolubili în apă, dar ușor solubili în mediu slab alcalin, ceea ce ar prezenta unele avantaje în cazul cînd aceste substanțe ar deveni medicamente, putîndu-se absorbi din mediul intestinal.

În vederea confirmării structurii compușilor sintetizați de noi, am cercetat structura acestora și cu ajutorul unui studiu spectrofotometric în infraroșu (I.R.) în domeniul cuprins între 400 și 3 600 cm^{-1} cu ajutorul unui spectrofotometru U.R. 10 „Karl Zeiss", folosind tehnica comprimării în bromură de potasiu[1].

În figurile 1 și 2 sînt prezentate unele spectre obținute, celelalte fiind similare.

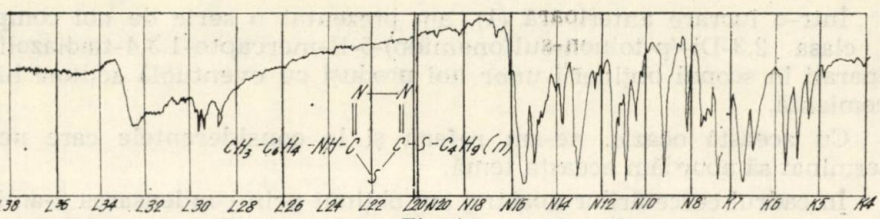


Fig. 1

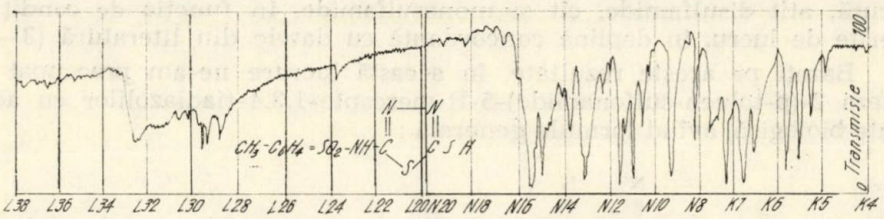
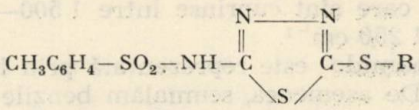


Fig. 2

Spectrele obținute au pus în evidență prezența în structura compușilor înscriși în tabelul I a diferitelor grupări caracteristice, active

[1] Determinările în infraroșu au fost efectuate de către cercet. pr. farm. Elena Șișman de la I.C.S.M.C.F., căreia îi aducem și pe această cale călduroase mulțumiri.

Tabelul I



Nr. crt.	R	Formula brută Greutatea moleculară	Rt %	Punctul de topire	R%	S%
					Calculat Găsit	Calculat Găsit
1	$-H$	$C_9H_9O_2N_3S_3$ 287	70	104° (acid acetic-apă)	14,63 14,75	33,44 33,65
2	$-CH_3$	$C_{10}H_{11}O_2N_3S_3$ 301	90	176° (etanol-apă)	13,95 13,98	31,89 32,05
3	$-C_2H_5$	$C_{11}H_{13}O_2N_3S_3$ 315	85	108° (apă)	13,33 13,46	30,47 30,70
4	$-n.C_3H_7$	$C_{12}H_{15}O_2N_3S_3$ 329	70	115° (acid acetic-apă)	12,76 12,59	29,17 28,40
5	$-i.C_3H_7$	$C_{12}H_{15}O_2N_3S_3$ 329	92	153° (acid acetic-apă)	12,76 12,86	29,17 29,37
6	$-n.C_4H_9$	$C_{13}H_{17}O_2N_3S_3$ 343	84	107° (metanol-apă)	12,24 12,40	27,98 28,18
7	$-i.C_4H_9$	$C_{13}H_{17}O_2N_3S_3$ 343	90	103° (etanol-apă)	12,24 12,40	27,98 28,22
8	$-t.C_4H_9$	$C_{13}H_{17}O_2N_3S_3$ 343	52	227° (acid acetic)	12,24 12,48	27,98 27,79
9	$-n.C_5H_{11}$	$C_{14}H_{19}O_2N_3S_3$ 357	54	112° (acid acetic-apă)	11,76 11,98	26,89 27,13
10	$-i.C_5H_{11}$	$C_{14}H_{19}O_2N_3S_3$ 357	80	115° (acid acetic-apă)	11,76 11,90	26,89 26,63
11	$-n.C_8H_{11}$	$C_{17}H_{25}O_2N_3S_3$ 399	62	97° (acid acetic)	10,52 10,72	24,06 24,30
12	$-C_{10}H_{21}$	$C_{19}H_{29}O_2N_3S_3$ 427	64	79° (acid acetic-apă)	9,83 10,01	21,54 21,32
13	$-C_5H_9$ ciclo	$C_{14}H_{17}O_2N_3S_3$ 355	70	105° (acid acetic)	11,83 12,00	27,04 27,22
14	$-C_6H_{11}$ ciclo	$C_{15}H_{19}O_2N_3S_3$ 369	67	143° (acid acetic)	11,38 11,59	26,01 26,19
15	$-CH_2-C_6H_5$	$C_{16}H_{15}O_2N_3S_3$ 377	71	116° (acid acetic-apă)	11,14 11,21	25,46 25,62
16	$-CO-C_6H_5$	$C_{16}H_{13}O_3N_3S_3$ 391	51	285° (dioxan-apă)	10,74 10,90	24,55 24,37

în I.R. Astfel, am identificat benzile de absorbție ale nucleului 1,3,4-tiadiazolic substituit, care sînt cuprinse între 1 500—1 520 cm^{-1}, 1 390—1 410 cm^{-1} și 1 230—1 250 cm^{-1}.

Gruparea sulfonamido- este reprezentată prin benzile ce apar între 1 300 și 1 400 cm^{-1}. De asemenea, semnalăm benzile de intensitate slabă de la 1 020 cm^{-1} care reprezintă vibrația asimetrică a grupării $—SO_2$.

În spectrele compușilor prezentați în lucrare (monosulfamide) se găsesc benzi de absorbție în regiunea 3 210—3 280 cm^{-1}, caracteristice vibrației de valență a grupării —NH—, pe care nu le-am întîlnit în spectrogramele disulfamidelor, care au făcut obiectul unei lucrări anterioare (1), așa cum era de așteptat, întrucît acești compuși nu conțin gruparea —NH—.

Gruparea C—S exociclică am identificat-o prin benzile de intensitate medie de la 810—820 cm^{-1} și de intensitate puternică de la 570—580 cm^{-1}.

Frecvențele de valență ale lui C—H apar în spectrele compușilor noștri în regiunea 2 780—3 150 cm^{-1}.

Frecvențele caracteristice grupării fenil substituite se găsesc la 670 cm^{-1} sub formă de benzi intense și de asemenea la 700—790 cm^{-1}.

Radicalul metil legat de ciclul benzenic este caracterizat printr-o bandă situată între 2 955—2 980 cm^{-1} și una între 2 870—2 880 cm^{-1}.

Încercările privind activitatea biologică efectuate într-o primă etapă ne-au condus la următoarele concluzii referitor la relația care există între structura chimică și activitatea farmacodinamică. Testările pe celula vegetală au demonstrat că produșii obținuți de noi nu posedă acțiune citostatică, ci numai o ușoară acțiune de potențare a activității statmodieretice a cafeinei. Pe măsură ce numărul atomilor de carbon de la radicalii alchilici ai funcției tioeterice crește, se mărește gradat și acțiunea de potențare a cafeinei, care ajunge maximă la compușii unde radicalul are patru atomi de carbon, după care activitatea acestora începe să descrească.

Produșii cu radicali normali sînt mai activi decît cei cu radicalii ramificați, aceasta fiind valabil atît pentru monosulfamide, cît și pentru disulfamide.

Testarea orientativă a acțiunii antibacteriene, exercitată de compușii obținuți, ne-a confirmat faptul că aceștia manifestă o activitate specifică asupra unor microorganisme grampozitive și gramnegative, ca și asupra unor ciuperci. Se constată că activitatea crește pe măsură ce se mărește numărul atomilor de carbon de la radicali, activitatea fiind maximă pentru compușii cu radicali avînd patru și cinci atomi de carbon, pentru ca apoi să descrească.

Testarea pe animale a acțiunii hipoglicemiante a produșilor sintetizați de noi ne-a arătat că aceștia posedă o acțiune interesantă de reducere a glicemiei, în tot cazul mai pronunțată și mai prelungită decît a unor sulfamide tiadiazolice, dar fără sulf în poziția 5 a nucleului 1,3,4-tiadiazolic. Unii dintre compuși, cum este 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-izobutil-mercapto-1,3,4-tiadiazol, ajung la valori procentuale maxime, pînă la 48%.

Introducerea sulfului a făcut să scadă toxicitatea și să se prelungească acțiunea hipoglicemiantă a produșilor noi sintetizați care, din cele constatate, este maximă la 6 ore, dar se păstrează și după aceea.

Cercetările de enzimologie (9) au scos în relief faptul că produșii noștri exercită o acțiune inhibitorie asupra activității glucozo-6-fos-

fatazei, ca și asupra pirofosfatazei hepatice, în funcție de concentrația substanței active și de natura radicalului substituit. Această inhibiție confirmă activitatea hipoglicemiantă a produșilor preparați de noi. În cadrul discuției asupra diverselor mecanisme posibile ale inhibiției observate, am emis ipoteza că ar fi vorba, cu precădere, de o inhibiție de tip alosteric.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Sinteza 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor a fost făcută după metode indicate în lucrările noastre anterioare (2), iar a p-toluen-sulfoclorurii (p.t. = 67—68°), pe baza datelor din literatură.

2-(p-toluen-sulformamido)-5-mercapto-1,3,4-tiadiazol

1. *Preparare prin hidroliza 2,3-di-(p-toluen-sulfonamido)-5-mercapto-1,3,4-tiadiazolului*

4,41 g (0,01 moli) 2,3,-di-(p-toluen-sulfonamido)-5-mercapto-1,3,4-tiadiazol se încălzesc timp de 3 ore la fierbere, în 50 ml soluție 0,5 M hidroxid de sodiu. Soluția rezultată după răcire se tratează cu acid clorhidric 10% pînă la pH = 3, se alcalinizează cu hidroxid de bariu 10% pînă la pH = 8, după care se acidulează, tot cu acid clorhidric 10%, la pH = 5, cînd are loc precipitarea. Se lasă în repaus 24 de ore, la temperatura obișnuită, se esorează, reținînd precipitatul.

Am obținut 2 g (Rt = 70%) produs 1, pulbere amorfă, gălbuie, cu punctul de topire = 104° (acid acetic-apă, 1 : 1), insolubilă în apă, solubilă în etanol la cald, în acetonă rece :

$C_9H_9O_2N_3S_3$	N% calculat = 14,63	S% calculat = 33,44
Gr. mol. = 287	N% găsit = 14,75	S% găsit = 33,65.

2. *Preparare prin condensarea 2-amino-5-mercapto-1,3,4-tiadiazolului cu p-toluen-sulfoclorură în piridină*

13,30 g (0,1 moli) 2-amino-5-mercapto-1,3,4-tiadiazol se introduc în 50 ml piridină anhidră și se adaugă treptat, sub răcire pe baie cu gheață, 22,80 g (0,12 moli) p-toluen-sulfoclorură dizolvată în 50 ml piridină anhidră.

Se agită 3 ore la rece, timp în care apare un precipitat. După 2 zile la temperatura camerei, soluția de culoare roșie se tratează cu 200 ml acid clorhidric 1 : 1 (pH = 3) ; apare un ulei care în decurs de 24 de ore se întărește.

Precipitatul se încălzește la fierbere cu 200 ml etanol, în prezența cărbunelui animal, se filtrează, iar soluția alcoolică se concentrează pînă la o slabă precipitare.

Astfel, am obținut 25,85 g (Rt = 90%) 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-mercapto-1,3,4-tiadiazol cu punctul de topire = 103° (acid acetic-apă, 1 : 1), care prezintă aceleași caracteristici ca și produsul obținut prin hidroliză.

Amestecul celor doi produși, obținuți pe cele două căi, nu a dat depresiune la punctul de topire :

$C_9H_9O_2N_3S_3$	N% calculat = 14,63	S% calculat = 33,44
Gr. mol. = 287	N% găsit = 14,62	S% găsit = 33,60.

CONCLUZII

S-au sintetizat 16 compuși noi, necitați în literatura consultată, din clasa 2-(p-toluen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol, ca urmare a tautomerizării în formă aminică a 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor folosiți în reacția de condensare cu p-toluen-sulfoclorură, în piridină anhidră și la zero grade.

Studiul spectrofotometric în I.R. a confirmat și pe această cale structura noilor compuși sintetizați.

Se prezintă unele relații între structura chimică și activitatea biologică, ca urmare a testării orientative a activității antimicrobiene și hipoglicemiante (farmacologic și enzimologic).

BIBLIOGRAFIE

1. OȚELEANU D. — Noi derivați sulfonamidici ai 1,3,4-tiadiazolului cu activitate farmacodinamică, *Farmacia (Buc.)*, 1972, *XX*, 8, 485. — 2. OȚELEANU D. — Noi derivați ai 2-amino-5-mercapto-1,3,4-tiadiazolului, *Farmacia (Buc.)*, 1972, *XX*, 9. — 3. BOGGIANO B. G., PETROV V. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1961, 9, 567. — 4. * * * — Brevet francez nr. 51459/12.VIII.1942, adaos la brevetul nr. 866175 (Rhône Poulenc). — 5. MAYER R., VIOD P. — B.f. 866175/27.VI.1941. — 6. MASAKY OHTA și colab. — *J. Pharm. Soc. Jap.*, 1951, *71*, 1 461 ; 1953, *73*, 701. — 7. * * * — Japan patent nr. 4037/2.IV.1960. — 8. CHUBB F., NISSENBOUM I. — *Can. J. Chem.*, 1959, *37*, 112, 1. — 9. OȚELEANU D., ROSETTI MATILDA, DIMITRIU MARIA AGNES — Cercetări privind influența exercitată de 2-(p-toluensulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazoli asupra activității glucozo-6-fosfatazice din ficatul de șobolan, *Farmacia (Buc.)*, 1973, *XXI*, 3, 143—151.

Articol intrat în redacție la 12.III.1974. Indicele de clasificare : 615.778.25

SUMMARY

D. Oțeleanu, Maria Agnes Dimitriu — NEW DERIVATIVES WITH A BIOLOGIC ACTIVITY OF THE 2-(p-TOLUENE-SULFONAMIDE)-5-R-MERCAPTO-1,3,4-THIADIAZOL SERIES

Sixteen new compounds, not mentioned in the speciality literature, of the 2-(p-toluene-sulfonamide)-5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazol class, were synthetized by tautomerization in aminic form of 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazols, used in the condensation reaction with p-toluene-sulfochloride in anhydric pyridine at zero degrees.

Spectrophotometric study in infrared light confirmed the structure of the newly synthetized compounds.

Orientative testing of antimicrobial and hypoglycemia-inducing activity (pharmacologic and enzymologic) revealed certain relationships between the chemical structure and biologic activity of these new compounds.

РЕЗЮМЕ

Д. Оцеляну, Мария Агнес Димитриу — НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ РЯДА 2-(п-ТОЛУЕН-СУЛЬФОНАМИД)-5-Р-МЕРКАПТО-1,3,4-ТИАДИАЗОЛОВ ОБЛАДАЮЩИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ

Авторы синтезировали 16 новых, еще неупоминавшихся в литературе по специальности производных класса 2-(р-толуен-сулфонамид -5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазола при помощи таутомеризации в аминовой форме 2-амино-5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазолов, применяемых в реакции конденсации с р-толуен-сульфохлором в безводном пиридине и при температуре равной 0°.

Электрофотометрическое исследование в инфракрасном сиектре подтвердилось и этим путем структуру новых синтезированных производных.

Описываются некоторые отношения между химической структурой и биологической деятельностью на основании ориентационного тестирования антимикробной и гипоишемической деятельности (фармакологической и энзимологической).

Cercetarea cromatografică a meprobamatului din material biologic

I. Popa

Laboratorul de toxicologie, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *Autorul folosește pentru evidențierea meprobamatului separat cromatografic săruri de argint sau de mercur, asociate cu rodamina B. Separă meprobamatul de o serie de substanțe izolate cu solvenți organici din mediu acid și alcalin. Reamintește faptul că diazepamul se izolează și din mediul acid, ceea ce prezintă importanță în cazul asocierii de tranchilizante.*

Deși frecvența intoxicațiilor cu meprobamat este în scădere și în favoarea derivaților de benzodiazepină și de fenotiazină, ele se mențin totuși din cauza asocierii lui cu alte medicamente. Astfel, se poate cita preparatul Nyktagen (bromizovalerianilcarbamidă, metaqualonă, meprobamat) (1), cît și alte formule. În aceste condiții cercetarea toxicologică prezintă unele particularități, iar diagnosticul clinic al intoxicației nu poate aduce indicații certe asupra medicamentului incriminat.

O particularitate a meprobamatului constă în faptul că el poate fi extras cu solvenți organici din mediu acid, neutru și alcalin, randamentul cel mai bun fiind obținut la extracția din mediu acid (2).

Pentru aceste considerente s-a luat în cercetare separarea meprobamatului prin cromatografie în strat subțire, avînd în vedere și posibilitatea existenței sale alături de alte tranchilizante, unele hipnotice, eventual alcaloizi de uz curent.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Izolarea, separarea și identificarea meprobamatului, cînd este asociat cu alte medicamente, nu este o problemă ușoară.

La extracția cu cloroform din soluția extractivă acidă, trebuie să se țină seama că o serie de clorhidrați — unele fenotiazine și diferiți alcaloizi — sînt solubili în acest solvent (3). Pentru înlăturarea acestui neajuns, cît și pentru a neutraliza acidul clorhidric sau acidul tartric (folosiți la acidularea mediului), se recomandă agitarea solventului organic cu soluția tampon de fosfat M/15 cu pH 7,4.

Izotov și colab. (4) au semnalat că la efectuarea extracției din mediu de acid oxalic (pH 2—3,5) cu cloroform este extras diazepamul, iar după alcalinizare cu amoniac este separat cu același solvent clordiazepoxidul.

În operațiile de extracție a meprobamatului din mediu acid s-a ținut seama de observațiile menționate, iar folosirea tamponului de fosfat, pe lîngă neutralizarea acidității, permite și o purificare a substanțelor extrase (în particular derivații barbiturici).

Pentru izolarea meprobamatului din urină s-a folosit tehnica indicată de Olesen (8), care constă în acidularea probei de urină (5 ml) cu acid clorhidric și extragerea lui cu eter (25 ml). În cazul sîngelui sau serului, extracția are loc cu eter, iar la viscere cu cloroform (dacă se suspectează prezența clordiazepoxidului, se va folosi eterul).

Reziduul rămas în urma evaporării solventului extractiv, dizolvat în 0,2 ml metanol, a servit pentru separarea cromatografică în strat subțire.

Pentru separarea meprobamatului izolat din mediul acid și alături de alte medicamente, s-au folosit o serie de sisteme de migrare, rezultate bune obținîndu-se cu cele menționate în tabelul I

Tabelul I

Sistemele de migrare și valorile R_f obținute pentru unele substanțe izolate în mediul acid

Substanța cercetată	Sistemul de migrare				
	A	B	C	D	E*
1. Meprobamat	0,93	0,44	0,94	0,85	0,28
2. Fenobarbital	0,59	0,90	0,58	0,44	0,83
3. Amital	0,88	0,96	0,78	0,68	0,92
4. Ciclobarbital	0,76	0,94	0,67	0,57	0,88
5. Barbital	0,69	0,93	0,58	0,51	0,88
6. Fenitoina	0,89	0,84	0,78	0,73	0,72
7. Primidona	0,95	0,95	0,94	0,82	0,27
8. Glutetimida	0,95	0,92	0,97	0,93	0,98
9. Bemegrid	0,96	0,94	0,98	0,90	0,93
10. Cantaridina	0,16	—	0,16	—	—
11. Digitoxina	0,96	0,27	0,96	0,81	0,14
12. Santonina	0,96	0,96	0,97	—	—
13. Picrotoxina	0,87	0,80	0,84	—	0,39/0,68
14. Acid salicilic	0,31	0,28	0,53	0,35	0,22 E
15. Diazepam	0,98	0,94	0,98	0,93	0,92
16. Clordiazepoxid (lactama)	0,88	0,36	0,96	0,88	0,23

A — Cloroform-izopropanol-amoniac 25% (45 ;45 ;10) ; B — Cloroform-acetonă (70 ; 30) ; C — Izopropanol-ciclohexan-amoniac 25% (65 ;25 ;10) ; D — n-Butanol-amoniac 25% (90 ;10) ; E* — Cloroform-acetonă (80 ;20) ; E = spot elongat.

Evidențierea spoturilor s-a efectuat cu doi reactivi cromogenici preconizați de noi și utilizați pentru revelarea derivaților barbiturici și a unor substanțe izolabile din mediul acid (5, 6) :

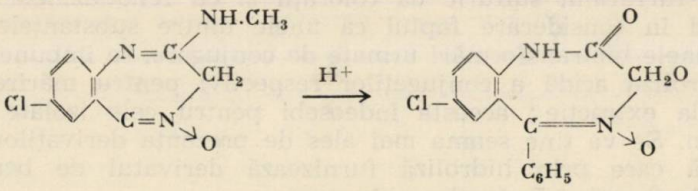
1) azotat de argint-rodamina B : 8 ml 5% azotat de argint + 2 ml 0,2% rodamină B + 2 ml metanol ;

2) clorură mercurică + rodamina B : 8 ml 5% clorură mercurică + 2 ml 0,2% rodamina B în etanol 50°.

În unele cazuri, comportarea substanțelor diferă în funcție de reactivul utilizat. De exemplu, primidona, bemegridul, apar mai evidente la pulverizarea cu sarea mercurică, iar glutetimida și picrotoxina la azotatul de argint. La celelalte substanțe studiate și menționate în tabelul I, nu se remarcă diferențieri față de reactivii cromogenici.

Avînd în vedere remarca interesantă semnalată de Izotov și colab. (4), cu privire la diazepam și clordiazepoxid s-a efectuat extracția

amestecului acestor substanţe din mediu de acid exalic, acid tartric şi acid clorhidric (la pH 2) cu ajutorul cloroformului. Ca metodă de control s-a folosit cromatografia în strat subţire. Folosind sistemele de migrare menţionate în tabelul I, s-au putut pune în evidenţă cantităţi foarte mici de clordiazepoxid (din mediul acid) prin folosirea reactivilor cromogenici amintiţi, cît şi a reactivului Munier-Macheboeuf. Foarte probabil că spotul evidenţiat reprezintă lactama clordiazepoxidului, rezultată din cauza aciditătii mediului. Clordiazepoxidul este izolat în majoritate din mediul alcalin.



La extracţia cu eter etilic din mediu acid nu se mai detectează pe cromatoplacă prezenţa clordiazepoxidului.

Pentru separarea meprobamatului izolat din mediul alcalin s-au folosit sistemele menţionate în tabelul II.

Tabelul II

Sistemele de migrare şi valorile R_f obţinute pentru unele substanţe izolate din mediul alcalin

Substanţa cercetată	Sistemul de migrare		
	A	B	C
1. Meprobamat	0,40	0,13	0,43
2. Clorpromazina	0,38	0,83	0,35
3. Proclorperazina	0,32	0,40	0,12
4. Prometazina	0,38	0,75	0,34
5. Clordiazepoxid	0,51	0,22	0,39
6. Diazepam	0,72	0,47	0,87
7. 2-amino-5-clorobenzofenona	0,96	0,49	Fr.
8. Nozinan	0,39	0,84	0,42
9. Imipramina	0,33	0,92	0,24
10. Hidroxizin	0,39	0,36	0,32
11. Benactizin		0,72	0,50
12. Metaqualona	0,79	0,53	0,92
13. Atropina	0,00	0,30	0,00
14. Chinina	0,28E	0,25	0,00
15. Colchicina	0,38	0,03	0,00
16. Diaformina	0,33	0,37	0,17
17. Morfina	0,05	0,13	0,00

A — Cloroform-metanol-acetat de butil (90 :9 :21) ; B — Ciclohexan-acetonă-dietilamină (70 :20 :10) ; C — Benzen-acetonă 70 :30) ; E — spot elongat.

Dat fiind faptul că alături de meprobamat, prin diverse asocieri, pot fi prezente şi alte substanţe cu caracter bazic, evidenţierea lor, în afara reactivilor cromogenici, s-a făcut în paralel cu reactivul Menier-Macheboeuf şi iodoplatinat de potasiu, ultimii nereacţionînd cu meprobamatul.

În cazul existenţei unui dubiu cu privire la prezenţa sau absenţa meprobamatului, reacţiile amintite, cu sărurile de argint şi de mercur asociate cu rodamina B, se vor completa cu unele reacţii de condensare.

Experimentările efectuate cu reactivul Urk (1 g p-dimetil-aminobenzaldehidă în 50 ml HCl concentrat) și încălzirea cromatoplăcilor (spot galben), cu 1% furfural în acetonă și apoi pulverizarea cu 10% acid sulfuric în acetonă (spot albastru-violet-negru) (7), cît și cu 1% vanilină în etanol și menținerea cromatoplăcii în atmosferă de acid clorhidric (spot albastru-violet) sau cu aldehidă salicilică, au demonstrat că reacțiile sînt pozitive numai pentru meprobamat, celelalte substanțe studiate, izolate din mediul acid, neavînd nici o influență. Noirfalise atrage atenția că furfuralul sulfuric dă colorații și cu fenotiazinele (9).

Luînd în considerare faptul că unele dintre substanțele studiate suferă și unele biotransformări urmate de conjugare, se impune în multe cazuri hidroliza acidă a conjugaților respectivi pentru mărirea randamentului la extracție ; aceasta îndeosebi pentru cele izolate din mediul alcalin. Se va ține seama mai ales de prezența derivaților de benzodiazepină care prin hidroliză furnizează derivatul de benzofenonă (de exemplu 2-amino-5-clorobenzofenona).

CONCLUZII

Prin aplicarea cromatografiei în strat subțire și utilizarea sistemelor de migrare adecvate, s-a putut separa meprobamatul de unele substanțe izolate din mediul acid, ca și din cel alcalin.

Reactivii azotat de argint și clorură mercurică, asociați cu rodamina B, s-au dovedit utili pentru evidențierea meprobamatului.

La cercetarea substanțelor din mediul acid trebuie să se țină seam de prezența diazepamului, care se extrage atît cu cloroform, cît și cu eter ; la extracția cu cloroform apar și cantități mici de clordiazepoxid, ceea ce nu are loc la extracția cu eter.

BIBLIOGRAFIE

1. SCHINDERA F., GÄDEKE R., ROSS O., HÖHMANN H., POHL K. D., SAUER M., BISCHOFF W. — *Arch. Toxikol.*, 1973, *30*, 2, 95—102. 2. HEYDRICKX A., SCHAUVLIEGE M., BLOMME A. — *J. Pharm. Belg.*, 1965, 3—4, 117—130. — 3. PREUSS FR. R. — In : Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittelung der Gifte, vol. I, Ed. Vandenhoeck — Ruprecht, Göttingen, 1969, 18, 85. — 4. IZOTOV B. N., VOLKOVA I. V., KOLOMINOVA T. IA — *Sud. med. Ekspert.*, 1972, *15*, 2, 46—49. — 5. POPA I., STAN T., URSU ELENA — *Farmacia (Buc.)*, 1970, XVIII, 7, 417—420. — 6. POPA I., STAN T., ARMĂȘESCU L., URSU ELENA — *Farmacia (Buc.)*, 1972, XX, 1, 15—19. — 7. LAGRANGE G., THOMAS J. J. — *J. Pharm. Belg.*, 1958, 13, 42. — 8. OLESEN VENDELIN O. — *Acta Pharmacol. (Kbh.)*, 1966, 24, 183—188. — 9. NOIRFALISE A. — *J. Chromatog.*, 1965, 20, 61—77.

Articol intrat în redacție la 8.I.1974.

Indicele de clasiifcare : 615.782:545.844

РЕЗЮМЕ

И. Попа — ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕПРОБАМАТА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Автор для выявления выделенного хроматографически мепробамата применяет соли серебра или же ртути в сочетании с родамином В, отделяя мепробамат от ряда веществ, изолированных при помощи органических растворителей в кислой и щелочной среде. Подчеркивается, что диазепам выделяется также и в кислой среде, что имеет важность в случае сочетания с транкилизантными препаратми.

Cercetări asupra ciclizării unor N_1-acil-N_4-aril-tiosemicarbazide. Sinteza unor noi 1,3,4-tiadiazoli 2,5-disubstituiți de interes terapeutic

Ioana Șaramet

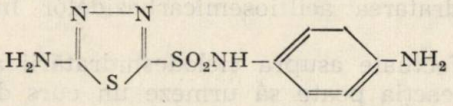
Laboratorul de chimie organică, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *Folosind reacția de ciclizare deshidratantă a unor N_1acil-N_4-aril-tiosemicarbazide sub acțiunea catalizatoare a protonilor, s-a sintetizat o nouă clasă de 1,3,4-tiadiozoli 2,5-disubstituiți; 1,3,4-tiadiazolii noi sintetizați conțin în poziția 2, gruparea α-naftilamino și respectiv O-tolilamino, iar în poziția 5, o componentă derivată de la p-X-difenilsulfonă.*

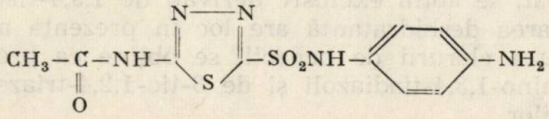
Constituția compușilor a fost dovedită prin metode chimice și fizico-chimice. Compușii au prezentat o intensă activitate antivirală asupra virusului mozaicului tutunului (T.M.V.),

Compușii cu nucleu 1,3,4-tiadiazolic sînt cunoscuți încă din 1890, dar studiul lor a luat o amploare deosebită, mai ales după ce Domagk și școala sa (1, 2) au atras atenția cercetătorilor prin descoperirea sulfamidelor cu nucleu 1, 3. 4-tiadiazolic.

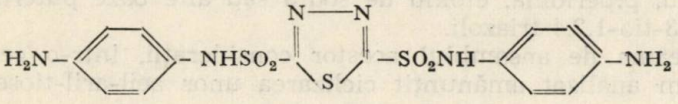
Astfel, în 1950, Robin și Clapp (3) publică lucrări remarcabile asupra multor sulfamide heterociclice cu nucleu 1,3,4-tiadiazolic, înzestrate cu efect inhibitor deosebit de intens la nivelul anhidrazei carbonice. Acestea corespund structurii 2-amino-5-(p-aminofenilsulfamoil)-1,3,4-tiadiazolului :



sau 2-acetilamino-5 (p-aminofenilsulfamoil)-1,3,4-tiadiazolului :

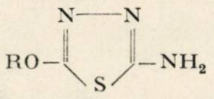


și, respectiv, 2,5-dis-(-aminofenilsulfamoil)-1,3,4-tiadiazolului :



Mai tîrziu, o serie de cercetări sistematice, datorite lui Klosa (4), scot în evidență că derivații sulfamidici ai 2-amino-5-benzil-1,3,4-tiadiazolului și cei ai 2-amino-5-(p-nitrofenil)-1,3,4 tiadiazolului prezintă interes deosebit ca substanțe potențial anticanceroase.

Între anii 1956 și 1968, Goerdeler, Ohm și Tegtmeyer (5), Clarkson și Landquist (6), precum și Russo și Ghelardoni (7) sintetizează noi derivați ai 2-alcoxi-5-amino (sau 5-sulfonamido)-1,3,4-tiadiazolului ;



care prezintă acțiune antibacilară, anticonvulsivantă, hipoglicemiantă, antiinflamatoare, antipiretică, analgezică sau antitiroidiană, în funcție de natura radicalului R.

Alte cercetări au scos în evidență că substanțe de tipul 2,5-di (halogeno sau nitro-benziltio)-1,3,4-tiadiazolului au activitate acaricidă (8), ditio-1,3,4-tiadiazolii sînt ovucizi și insecticizi (9), iar 3-R-tio-5-(2,4-dinitrofeniltio)-1,3,4-tiadiazolii, fungicizi (10). Trebuie relevată de asemenea și activitatea antivirală a unor derivați tiadiazolici cercetați în această perioadă de către Buu Hoi (11), precum și acțiunea citostatică sau potențial anticanceroasă a altor derivații, care conțin pe nucleul 1,3,4-tiadiazolic grupele bis-α-cloretil, acilamino, haloacetil etc. (12—14).

Cercetările întreprinse în ultimii ani în clasa 1,3,4-tiadiazolului (15—31) au reconfirmat prezența unor importante proprietăți farmacodinamice la majoritatea compușilor cu acest nucleu, subtituit în pozițiile 2 și 5.

Din cele expuse rezultă că reunirea nucleului 1,3,4-tiadiazolic cu structuri viniloge, cum este de pildă gruparea aril-amino-sulfonă, într-o moleculă unică, poate prezenta interes din punct de vedere terapeutic, iar orientarea cercetărilor spre studiul în amănunt al unor asemenea configurații moleculare constituie un obiectiv actual și de perspectivă.

Sistematizînd datele obținute pînă la acea etapă, Sandström (33) arată în 1968, într-o lucrare de ansamblu, că derivații amino-1,3,4-tiadiazolului pot fi sintetizați în general comod și cu randament optim prin :

— ciclizarea oxidativă cu clorură ferică sau brom în cloroform a tiosemicarbazonelor ;

— ciclodeshidratarea aciltiosemicarbazidelor în prezență de acid sulfuric.

Cercetările efectuate asupra ciclodeshidratării aciltiosemicarbazidelor au arătat că reacția poate să urmeze un curs diferit în funcție de condițiile experimentale. Astfel, utilizînd ca agent de ciclizare acidul sulfuric concentrat, se obțin exclusiv derivați de 1,3,4-tiadiazol.

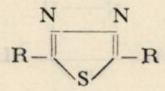
Dacă ciclizarea deshidratantă are loc în prezența acidului clorhidric, fosforic sau a clorurii de benzoil, se obține ca produs final un amestec de 2-amino-1,3,4-tiadiazoli și de 3-tio-1,2,4-triazoli, cu preponderența tiadiazolilor.

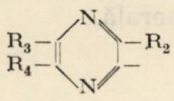
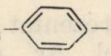
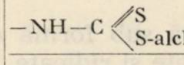
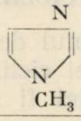
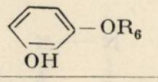
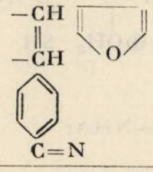
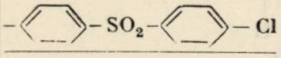
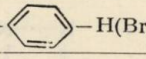
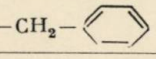
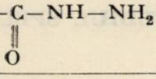
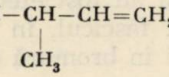
Conducînd reacția de ciclizare în cataliză bazică, în mediu de hidroxid de sodiu, piperidină, etoxid de sodiu sau alte baze puternice, se obțin exclusiv 3-tio-1,2,4-triazoli.

Ținînd seama de ansamblul acestor considerații, într-o cercetare recentă (32) am analizat amănunțit ciclizarea unor acil-aril-tiosemicar-

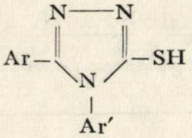
Tabelul I

Activitatea farmacodinamică a unor derivaţi 1,3,4-tiadiazolici



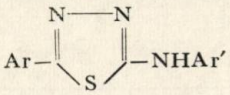
Nr.	R	R′	Acţiune farmacodinamică	Indice bibliografic
1a	Alchil (aril)		Hipoglicemiantă (maximă cînd R = C_4H_{11}, C_3H_7, C_6H_5 i−C_3H_7)	(20)
1b		−SH	Hipoglicemiantă (maximă cînd R =	(26)
1c	$-SR_5$		Hipoglicemiantă (maximă cînd R_5 = n−C_3H_7, Izo-C_3H_7, izo-C_4H_9)	(31)
1d	−S-alchil		Fungicidă	(10)
1e	Alchil		Potenţial fungicidă	(28)
1f	Alchil	−NHCOO alchil	Antivirală, antimicrobiană	(19)
1g	$-NO_2$		Antimicrobiană	(24)
1h			Antimicrobiană (maximă cînd R_6 = C_2H_5, n-C_5H_{11}, izo-C_5H_{11}, n-C_4H_9)	(30)
1i		$-NH_2$	Antibacteriană	(17)
1j		−NH−  −H(Br, I)	Antivirală	(21)
1k		−NH alchil (aril)	Antimitotică	(23)
1l			Antimitotică	(18)
1m	$-NH-CH_3$		Antitiroidiană, ovucidă	(27)

bazide 1,4-disubstituite, în cataliză bazică, cu obținerea de noi 1,2,4-triazoli disubstituiți de importanță farmacodinamică cu formula generală :



În lucrarea de față ne-am propus să studiem ciclizarea, sub acțiunea catalizatoare a protonilor, a aciltiosemicarbazidelor obținute anterior (32) prin adiția nucleofilă a hidrazidelor acizilor p-X-difenilsulfonil-p'-carboxilici la izotiocianații de o-tolil, respectiv de α-naftil.

Utilizînd ca agent de ciclizare acidul sulfuric concentrat, am reușit să sintetizăm în lucrarea de față o nouă clasă, care cuprinde 6 compuși cu nucleu 1,3,4-tiadiazolic, cu formula generală :



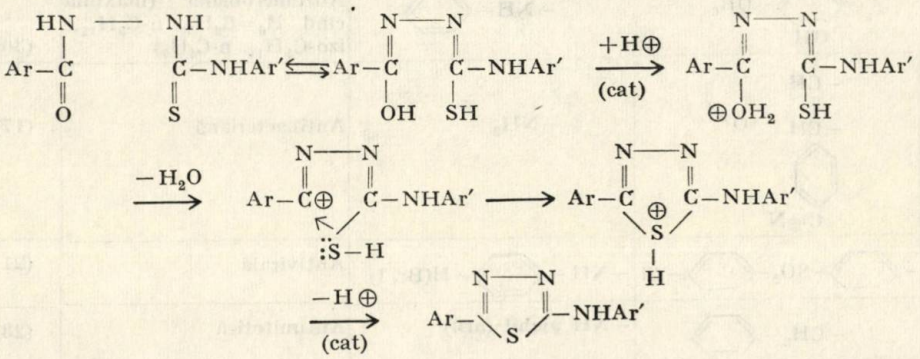
în care radicalul Ar este reprezentat printr-o componentă derivată de la p-X-difenilsulfonă, iar cel Ar' prin gruparea o-tolil, respectiv α-naftil.

Structura noilor compuși a fost verificată și confirmată prin analiza chimică elementară, precum și prin studiul integral al spectrelor de absorbție în I.R.

Compușii obținuți se prezintă sub formă de pulberi incolore, stabile în timp, cu puncte de topire nete și ridicate.

MECANISMUL REACȚIEI DE CICLIZARE ÎN CATALIZA ACIDĂ

În ceea ce privește mecanismul de formare al acestor compuși, se poate admite că este acela al unei ciclizări deshidratante normale (clasice) în seria heterociclilor, putînd fi rezumată prin următoarea succesiune de reacții :



DOVADA CONSTITUȚIEI NOILOR PRODUȘI PRIN STUDIUL SPECTRELOR DE VIBRAȚIE ÎN I.R.

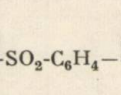
Spectrele celor 6 compuși au fost efectuate cu un spectrofotometru automat, tip UR-10, cu dublu fascicul, în domeniul spectral 400—4 000 cm^{-1}, folosind tehnica pastilării în bromură de potasiu.

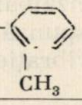
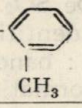
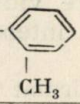
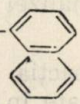
Atribuirile pe care am reușit să le dăm pentru benzile spectrale caracteristice fiecărui produs în parte au confirmat cu exactitate structura propusă de noi pe cale chimică.

Din datele spectrale obținute trebuie să reliefăm ca deosebit de însemnate următoarele :

Tabelul II

1,3,4-tiadiazoli 2,4-disubstituiți

(p)-X-C_6H_4-SO_2-C_6H_4-  -NHAr'

Nr.	X	Ar'	Formula și masa moleculară	η%	Temperatura de topire (solvent recristalizare) (t°C)	C%		H%		N%		S%	
						Calculat	găsit	Calculat	găsit	Calculat	găsit	Calculat	găsit
2a	H		$C_{21}H_{17}O_2N_3S_2$ 407,50	70,5	191 (etanol)	61,89	61,80	4,21	4,23	10,31	9,87	15,73	15,20
2b	H		$C_{24}H_{16}O_2N_3S_2$ 442,52	65	274 (acid acetic)	65,13	65,20	3,64	3,68	9,49	9,53	14,49	14,40
2c	Cl		$C_{21}H_{16}O_2N_3S_2Cl$ 441,95	70	215 (etanol)	57,06	57,01	3,64	3,61	9,50	9,65	14,51	14,47
2d	Cl		$C_{24}H_{16}O_2N_3S_2Cl$ 447,98	50	276 (acid acetic)	60,30	60,20	3,37	3,30	8,79	8,80	13,43	13,39
2e	Br		$C_{21}H_{16}O_2N_3S_2Br$ 486,41	65	310 (etanol)	51,85	51,77	3,31	3,25	8,64	8,78	13,20	13,10
2f	Br		$C_{24}H_{16}O_2N_3S_2Br$ 522,44	60	60 (acid acetic)	55,01	55,10	3,08	3,13	8,04	8,10	12,28	12,20

— În spectrul 1,3,4-tiadiazolului (2a în tabelul II, fig. 1) ales pentru exemplificare apare sub formă de umăr la 1 550—1 560 cm^{-1}, banda caracteristică legăturii C=N, care este cuprinsă în structura heterociclică. Pentru această bandă literatura indică valori cuprinse în regiunea 1 490—1 530 cm^{-1} și 1 590—1 614 cm^{-1} (29, 34).

— La 1 615 cm^{-1} apare o bandă slabă, caracteristică dublei legături C=N, exociclică. Aceasta arată preponderența formei tiadiazolice (aminice) propriu-zise, față de cea iminică, tautomeră.

— La 525 cm^{-1} și 1 240 cm^{-1} apar două benzi de intensitate medie, datorită vibrațiilor de deformație specifice inelului tiadiazolic, corespunzînd cu indicațiile din literatură (35—36, 37).

— Banda de la 1 470 cm^{-1} am atribuit-o vibrației de deformație a grupei N=C—S.

Am putut evidenția, de asemenea în spectrul ales, banda care corespunde vibrației de deformație în plan a grupei NH (Am. II) situată la 1 590 cm^{-1}; aceasta este o bandă foarte intensă; apoi am atribuit cele două benzi, corespunzătoare vibrațiilor grupei C—N (Am. III); una la

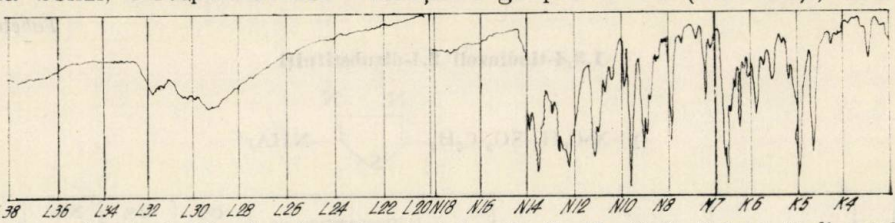


Fig. 1. — Spectrul I.R. al 2-(o-tolilamino)-5-p-(fenilsulfonil)-fenil-1,3,4,-tiadiazolului.

1 270 cm^{-1} — o bandă de intensitate medie — și cealaltă, o bandă intensă la 1 310 cm^{-1}.

La 760 cm^{-1} am identificat o bandă intensă, corespunzătoare vibrației grupei O Am. IV, iar la 725 cm^{-1}, o altă bandă, corespunzătoare vibrației grupei Am. V.; în sfîrșit, banda corespunzătoare vibrației de valență a legăturii NH am găsit-o situată la 3 190 cm^{-1}.

Banda slabă de la 515 cm^{-1} am atribuit-o vibrației de deformație a grupei SO_2.

La 1 160 cm^{-1} am atribuit banda foarte intensă, corespunzînd vibrației de valență ν_1 simetrică, iar la 1 310 cm^{-1} o bandă intensă datorită vibrației de valență ν_3 asimetrică, a aceleiași grupe SO_2.

Pe de altă parte, în spectrul compusului nr. 2 am identificat benzile corespunzătoare vibrației inelului benzenic, și anume: banda foarte intensă de ν_4, de la 690 cm^{-1}, corespunzînd vibrației de deformație a legăturii C—H, perpendiculară pe planul ciclului; banda ν_{14}, corespunzătoare vibrației de deformație a legăturii C—H, paralelă cu planul ciclului, o bandă slabă situată la 1 020 cm^{-1}, banda ν_{12}, de la 3 105 cm^{-1}, o bandă slabă, corespunzătoare vibrației de valență a legăturii C—H și banda ν_{13}, o bandă foarte intensă, de la 1 495 cm^{-1}, corespunzătoare vibrației de valență a legăturii C—C. Am atribuit apoi banda foarte intensă de la 950 cm^{-1} vibrației fenilului disubstituit.

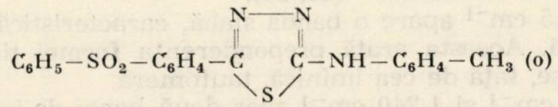
Toate aceste atribuiri au fost concludente și au confirmat întocmai structura chimică formulată de noi pe baza rezultatelor analizei chimice.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Tiosemicarbazidele, utilizate ca materie primă în reacția de ciclizare deshidratantă, au fost sintetizate după metodele indicate în lucrarea anterioară (32).

Pentru prepararea amino-1,3,4-tiadiazolilor s-a folosit tehnica de lucru indicată de Hoggarth (38), folosită și în alte lucrări ulterioare (15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 29, 30, 31, 32, 38).

2-(o-tolilamino)-5-p-(fenilsulfonil)-fenil-1,3,4-tiadiazolul (2a)



4,3 g (0,01 moli) N_1-p-(fenilsulfonil)-benzoil-N_4-(o-tolil)-tiosemicarbazidă au fost solubilizate, prin agitare, în 21,2 ml (exces) acid sulfuric concen-

trat (d=1,84). Soluția s-a colorat în roșu-brun intens. După dizolvarea completă și limpezirea soluției, s-a lăsat în repaus 45 de minute, la temperatura camerei, pentru desăvîrșirea ciclizării. Apoi s-a turnat pe gheață pisată mărunt și s-a amestecat cu bagheta timp de 5 minute, continuu. S-a depus un precipitat alb, foarte abundent. După topirea gheței, precipitatul s-a depus pe fundul vasului de reacție. S-a neutralizat cu amoniac concentrat pînă la pH=8 și s-a lăsat în repaus 48 de ore. S-au depus și s-au aglomerat microcristale incolore, care au fost esorate și spălate cu apă multă, de cîteva ori, pînă la reacție neutră (pH = 7). După uscare în exsicator, cristalele au p.t. = 191 (etanol), fiind solubile în cloroform și piridină, greu solubile în acid acetic, metanol și etanol, insolubile în apă, ligroină, eter de petrol.

STUDIUL ACȚIUNII ANTIVIRALE

S-a experimentat acțiunea antivirotică asupra plantelor *Nicotiana Glutinosa* și *Nicotiana Xanthi*, infectate experimental cu virusul mozaicului tutunului. Acestea prezentau ca simptome leziuni locale (necroze).

Toți compușii testați s-au dovedit a fi activi, prezentînd o puternică inhibiție (aproximativ 50%) asupra dezvoltării necrozei la administrarea preventivă a substanțelor cu 2 ore înainte de infectarea experimentală.

Toate substanțele studiate sînt practic lipsite de toxicitate.

În concluzie, ciclodeshidratarea în mediu de acid sulfuric a aciltiosemicarbazidelor de structură dată a condus la 1,3,4-tiadiazolii așteptați care s-au dovedit a fi activi asupra infecțiilor experimentale provocate de virusul mozaicului tutunului la plantele *Nicotiana Glutinosa* și *Nicotiana Xanthi*.

BIBLIOGRAFIE

1. DOMAGK G. — *Naturwissenschaften*, 1946, *33*, 356. — 2. BEHNISH R., MIETZZSCH F., SCHMIDT H. — *Angew. Chem.*, 1948, *60*, 113. — 3. ROBIN R. O., CLAPP W. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1950, 72, 4 890. — 4. KLOSA J. — *Arch. Pharm.*, 1954, *287*, 12. — 5. GOERDELER J., TEGTMEYER O. — *Chem. Ber.*, 1956, *89*, 1 534. — 6. CLARKSON R., LANDQUIST J. K. — *J. Chem. Soc.*, 1967, 2 700. — 7. RUSSO F., GHELARDONI M. — *Boll. chim. farm.*, 1967, *106*, 826. — 8. HATCHARD W. R. — *J. Org. Chem.*, 1964, *29*, 665. — 9. TURILLI O., GANDINO M. — *Ann. ital. Chim.*, 1963, *53*, 1 687. — 10. PIANKA M. — *J. Sci. Food. Agric.*, 1968, *19*, 502. — 11. BUU HOI N. P. — Progress in Drug Research, vol. III, Ed. Birkhauser, Basel-Stuttgart, 1961. — 12. OLESSON J. J., SLOBODA A., TROY W. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1955, 77, 6 713. — 13. HALETKI A. M., TURCAN O. — *Farm. Zh.*, 1966, *21*, 18. — 14. GAGIU F., GYÖRFI Z., BINDER N. — *J. prakt. Chem.*, 1968, *37*, 298. — 15. RANGA R. V., SRINIVASAN U. R. — *Indian J. Chem.*, 1970, *8*, 509. — 16. VON RAUEN H. M., SCHRIEWER H. — *Arzneimittel-Forsch.*, 1971, *21*, 75. — 17. ISCHIRO HIRAO, YASUHIKO KATO — *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 1971, *44*, 3 136 — 18. SIMITI I., PROINOV L. — *Farmacia (Buc.)*, 1971, *19*, 543. — 19. LALEZARI I., VAHDAT A. — *J. Med. Chem.*, 1971, *14*, 59. — 20. MHASALKAR M. Y., SHAH M. H., PILANKAR P. D., NIKAM S. T., AMANTANARAYANAN K. G., DELIWALA C. V. — *J. Med. Chem.*, 1971, *14*, 1 000. — 21. DEMETRESCU C., MANU V. — *Pharmazie*, 1972, *27*, 439. — 22. DEMETRESCU C. — *Rev. roum. Chim.*, 1972, *17*, 1 013. — 23. TUTOVEANU M., COMĂNIȚĂ E., ANDREI A., MIKLE I. — *Bul. Inst. politeh., Iași*, 1972, *18*, 96. — 24. ASATO G., BERKSLHAMMER G. — *J. Med. Chem.*, 1972, *15*, 1 086. — 25. SVANHOLM U. — *Acta Chem. scand.*, 1972, *26*, *459*. — 26. AMBROGI V., BLOCH K., DATURI S., LOGEMANN W., PARENTI M. A. — *J. Pharm. Sci.*, 1972, *61*, 1 483. — 27. ARCHBOLD T. J., ASCH-

BACHER P. W., TILTON J. E. — *J. Anim. Sci.*, 1973, *36*, 57. — 28. SHAMS SH. A., EL-DINE CLAUDER O. — *Acta chim. Acad. Sci. hung.*, 1973, *76*, 295. — 29. KOCHHAR M., SALAHI M., BYRON B., WILLIAMS B. — *J. Pharm. Sci.*, 1973, *62*, 336. — 30. ZOTTA V., SOARE J. — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *21*, 215. — 31. ROSETTI M., OȚELEANU D., DIMITRIU M. A. — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *21*, 83. — 32. DEMETRESCU C., SARAMET I. — *Rev. roum. Chim.*, 1972, *17*, 115. — 33. SANDSTRÖM J. — Advances in Heterocyclic Chemistry, vol. IX, Ed. Acad. Press, New York, Londra, 1968, p. 165. — 34. COBURN A. R., BHOOSHAN BHARAT, GLENOON A. R. — *J. Org. Chem.*, 1973, *38*, 3 947. — 35. KATRITZKY A. R., JONES R. A., LAGOWSKI J. M., BERD J. A. — *Spectrochim. Acta*, 1960, 16, 964. — 36. LIEBER E., RAO C. N., PILLAI C. N., RAMACHANDRAN G. — *Can. J. Chem.*, 1964, *42*, 63. — 37. SBRANA G., GINAMMESCHI M. — *Spectrochim. Acta*, 1966, *22*, 517. — 38. HOGGARTH E. — *J. Chem. Soc.*, 1949, 1 160.

Articol intrat în redacție la : 8.V.1974.

Indicele de clasificare : 615.779.93 TB

SUMMARY

Ioana Șaramet — INVESTIGATION ON THE CYCLING OF N_1-ACYL-N_4-ARYL-THIOSEMICARBAZIDE. THE SYNTHESIS OF NEW 1,3,4-THIADIAZOL 2,5-DISUBSTITUTES OF THERAPEUTICAL INTEREST

By dehydrating cycling of some N_1-acyl-N_4-aryl-thiosemicarbazides under the catalyzing action of protons a new class of 1,3,4-thiadiazol 2,5-disubstitutes was synthetized. The newly synthetized 1,3,4-thiadiazols contain in position 2 the α-naphthylamine and respectively o-tolylamine group, and in position 5 a derivative of p-X-diphenylsulfone.

The constitution of these compounds was demonstrated by chemical and physicochemical methods. The new products presented and intense antiviral activity against tobacco mosaic virus.

РЕЗЮМЕ

Иоана Шарамет — ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВОПРОСУ ЦИКЛИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ N_1-АЦИЛ-N_4-АРИЛ-ТИОСЕМИКАРБАЗИДОВ. СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ НОВЫХ ДВАЖДЫЗАМЕЩЕННЫХ 1,3,4-ТИАДИАЗОЛОВ-2,5 И ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ИНТЕРЕС

Применяя реакцию обезвоживающеи циклизацию некоторых N_1-ацил-N_4-арил-тиосемикарвазидов под каталитическим действием, протонов, автор синтезировал новый класс дважды замещенных 1,3,4-тиадиазолов 2,5. Вновь синтезированные 1,3,4-тиадиазолы содержат в позиции 2 альфа-нафтиламиновую группу и, соответственно —— о-толиламины, а в позиции 5 — компонент из р-Х-дифенилслулфона.

Состав производных был доказан при помощи химических и физико-химических методов, а в этих производных была отмечена интенсивная антивирусная деятельность в отношении вируса мозики табака.

Metoda difracției de raze X în cercetarea unor sisteme de substanțe de interes farmaceutic.

V. Sistemul acid acetilsalicilic — carbonat acid de sodiu — apă (vapori)

St. Moisescu, Vasilica Antonescu, I. Vanghelie

Facultatea de farmacie, Laboratorul de chimie fizică și coloidală, București

REZUMAT *Se prezintă date experimentale privind stabilitatea acidului acetilsalicilic în prezența unuia dintre componenții de bază ai comprimatelor efervescente, carbonatul acid de sodiu. Valorile constantelor de viteză aparentă ale procesului de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic, obținute printr-o metodă de difracție de raze X pentru sistemul acid acetilsalicilic/carbonat de sodiu 0,60/0,04, la conservarea în atmosferă de înaltă umiditate relativă sînt apreciate statistic.*

După cum se știe, la prepararea comprimatelor efervescente, substanței medicamentoase i se asociază un amestec solid, format dintr-o componentă alcalină ca sursă de bioxid de carbon (carbonat acid de sodiu sau de potasiu) și o componentă acidă (acid citric, acid tartric sau acid fumaric).

Pentru obținerea unor comprimate efervescente de calitate, substanței medicamentoase căreia i se asociază amestecul efervescent i se cere între altele să îndeplinească condițiile de a fi ușor solubilă și de a nu fi higroscopică.

Degradarea amestecului efervescent la conservare și chiar în timpul procesului de fabricație reprezintă o serioasă dificultate pentru o mai largă utilizare a acestei forme farmaceutice.

Comprimate efervescente de acid acetilsalicilic preparate în Franța (Aspirine Upsa) și în R.F.G. (Aspirin effervescens — Bayer) (1) se bucură de un gust plăcut și o administrare ușoară, mai ales în terapeutica infantilă.

Pentru asimilarea lor de către industria farmaceutică din țara noastră, un amplu studiu întreprins de I. Cruceanu (2) a urmărit precizarea unor factori care pot influența calitatea și conservabilitatea lor, tehnologia de fabricație și metodologia de control.

Între principalii factori cercetați în acest studiu s-au urmărit și umiditatea amestecului de pulberi de comprimat sau umiditatea relativă a spațiului de lucru sau de conservare. Astfel, în cazul în care comprimarea se face la 45% umiditate relativă, comprimatele prezintă

grave alterări după 3 luni de la preparare, iar după 6 luni devin necorespunzătoare la toți parametri.

Aplicabilitatea metodei difracției de raze X la cercetarea cineticilor aparente de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic și aminofenazonei în atmosferă de înaltă umiditate relativă, singure sau asociate în diverse proporții, cu sau fără substanțe auxiliare farmaceutice (amidon) (3, 4, 5), ne-a sugerat ideea folosirii ei la studiul stabilității acidului acetilsalicilic în formule de comprimate efervescente.

Încercări preliminare făcute cu amestecuri de pulberi conținînd : acid acetilsalicilic-carbonat acid de sodiu-acid citric, conform normelor de calitate din Farmacopeea română (ed. a VIII-a), în proporțiile 0,30 : 1,33 : 0,91, au arătat că, fără precauții speciale, cinetica degradării rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic nu poate fi evaluată prin metoda difracției de raze X, folosită de noi anterior, datorită degradării foarte rapide a comprimatelor.

De aceea, pentru a stabili ponderea contribuției fiecărui component la procesul distructiv, precum și a factorilor care-l pot influența, am considerat necesar ca într-o primă etapă să cercetăm cinetica degradării rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic în sisteme simple de tipul acid acetilsalicilic — carbonat acid de sodiu — apă (vapori).

Rezultate experimentale și discuții

Tehnica, aparatura și condițiile de lucru au fost identice cu cele folosite de noi anterior (3, 4, 5).

Probele au fost preparate prin amestecare cu spatula în mojar de agat a pulberilor cristaline cu gradul de mărunțire cuprins între 0,15 și 0,25 mm, după ce în prealabil acestea au fost ținute în exsicatoare în strat subțire de pentoxid de fosfor timp de 48 de ore.

Constantele de viteză aparentă de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic din probele conservate într-o atmosferă de înaltă umiditate relativă la 17 $\pm$ 2°C s-au dovedit și în acest caz a fi influențate de fracțiile în greutate ale componentelor, după cum se poate

Tabelul I

Dependența constantelor de viteză aparentă de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic de fracțiile în greutate ale componentelor din amestecuri inițial binare : acid acetilsalicilic/carbonat acid de sodiu

Nr. crt.	Acid acetilsalicilic/ carbonat acid de sodiu în amestecurile inițiale (g/g)	Nr. determinărilor	$\bar{k}$ (ore^{-1})
1	0,8/0,2	3	$3{,}13 \cdot 10^{-3}$
2	0,6/0,4	10	$1{,}517 \cdot 10^{-2}$
3	0,4/0,6	3	$2{,}27 \cdot 10^{-2}$

constata din tabelul I și din diagrama cinetică corespunzătoare unui set de 3 determinări (fig. 1).

Față de sistemele acid acetilsalicilic-aminofenazonă-apă (vapori) cercetate de noi anterior (3, 4, 5) s-a remarcat o relativ mai înaltă dis-

persie a valorilor constante de viteză obținute pentru aceeași funcție în greutate a componentelor.

În tabelul II, în afară de valorile experimentale ale constantelor de viteză pentru un număr de 10 experimente integrale, separate, sînt înscrise rezultatele prelucrării statistice elementare.

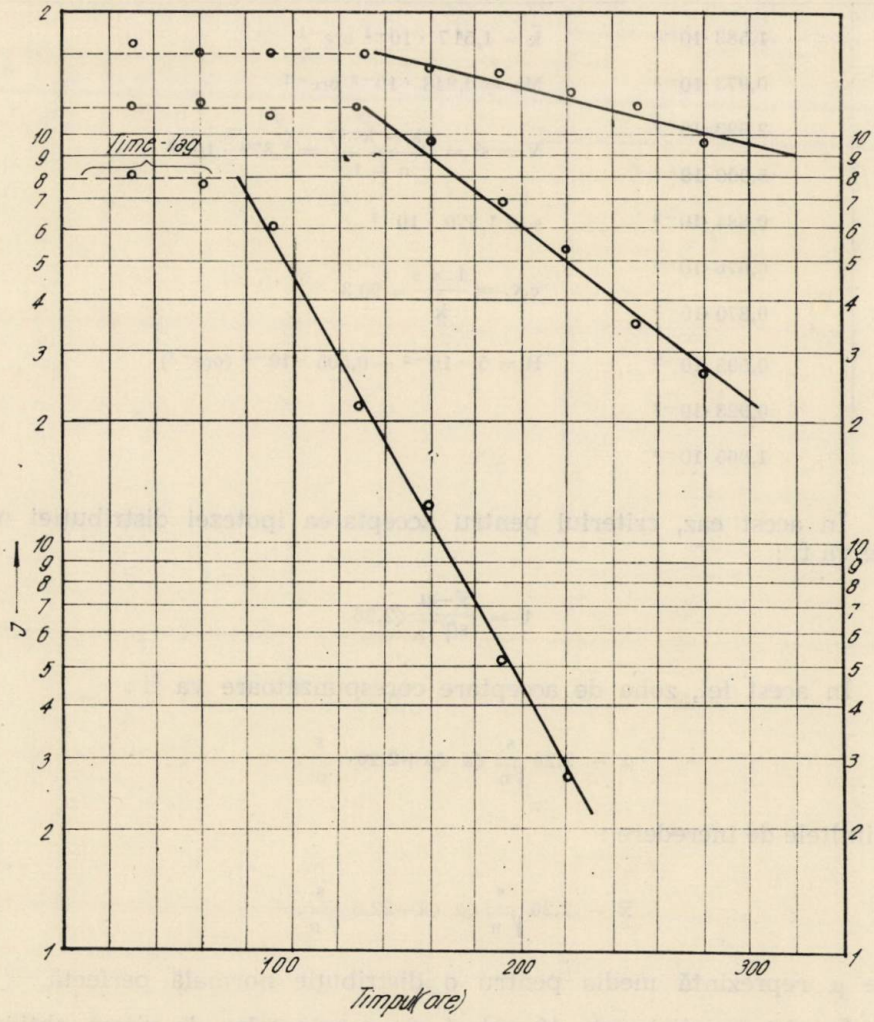


Fig. 1. — Diagrama cineticii aparente de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic în amestec cu carbonat acid de sodiu, în proporțiile : 0,8/02 (I) ; 0,6/0,4 (II) ; 0,4/0,6 (III), la conservare în atmosferă de înaltă umiditate relativă, la 17 ± 2°C (I — intensitatea maximului de difracție).

Dacă se presupune o distribuție normală a constantelor de viteză cu o probabilitate de 0,95, pentru probabilitatea ipotezei contrare (P = 0,05) și n-1 = 9 grade de libertate, corespunde un coeficient t = 2,26 (6).

Tabelul II

Constantele de viteză aparentă de degradare a rețelelor cristaline ale acidului acetilsalicilic în asociere cu carbonatul de acid de sodiu în raportul 0,6/0,4, la conservare în atmosferă cu înaltă umiditate relativă, la 17±2°C

Nr. crt.	k (ore^{-1})	Observații
1	$1{,}583 \cdot 10^{-2}$	$\bar{k} = 1{,}517 \cdot 10^{-2}$ ore^{-1}
2	$0{,}973 \cdot 10^{-2}$	$Me = 0{,}948 \cdot 10^{-2}$ ore^{-1}
3	$2{,}693 \cdot 10^{-2}$	$V = s^2 = \frac{(k - k^{-2})}{n - 1} = 1{,}879 \cdot 10^{-4}$
4	$5{,}000 \cdot 10^{-2}$	
5	$0{,}884 \cdot 10^{-2}$	$s = 1{,}370 \cdot 10^{-2}$
6	$0{,}676 \cdot 10^{-2}$	$c.v. = \frac{1 \times s}{k} = 90{,}3$
7	$0{,}870 \cdot 10^{-2}$	
8	$0{,}505 \cdot 10^{-2}$	$R = 5 \cdot 10^{-2} - 0{,}505 \cdot 10^{-2}$ (ore^{-1})
9	$0{,}923 \cdot 10^{-2}$	
10	$1{,}065 \cdot 10^{-2}$	

În acest caz, criteriul pentru acceptarea ipotezei distribuției normale va fi :

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{s/\sqrt{n}} < 2{,}26$$

În acest fel, zona de acceptare corespunzătoare va fi :

$$\mu - 2{,}26 \frac{s}{\sqrt{n}} < \bar{x} < \mu + 2{,}26 \cdot \frac{s}{n},$$

iar limitele de încredere :

$$\bar{x} - 2{,}26 \frac{s}{\sqrt{n}} < \mu < \bar{x} + 22{,}6 \frac{s}{\sqrt{n}},$$

unde μ reprezintă media pentru o distribuție normală perfectă.

În alți termeni, cele 10 valori ale constantelor de viteză obținute experimental și considerate ca aparținînd unei populații statistice normale ne conduc la concluzia că în 95% din determinări media constantelor de viteză aparentă va fi cuprinsă între :

$$\bar{k} \pm 22{,}6 \cdot \frac{s}{\sqrt{10}} = 1{,}517 \cdot 10^{-2} \pm 0{,}92 \cdot 10^{-2}$$

Examinarea diagramelor cinetice evidențiază, în plus, o perioadă de întîrziere *(time lag)* pentru începerea procesului de degradare. Această

perioadă, avînd valori cuprinse între 30 și 170 de ore, nu a putut fi încă corelată cu vreunul din factorii care pot influența procesul.

În privința mecanismului procesului degradativ, considerăm că ipoteza dizolvării în peliculele de apă de la suprafața cristalelor (3) poate fi luată, de asemenea în considerare.

De asemenea, apreciem că, luînd unele precauții, metoda difracției de raze X poate servi în continuare, atît la aprecierea stabilității comprimatelor efervescente de acid acetilsalicilic, cît și a tehnologiei optime de preparare.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Produse farmaceutice folosite în practica medicală, Ed. medicală, București, 1972. — 2. CRUCEANU I. — Contribuții la studiul comprimatelor efervescente, Teză de doctorat, I.M.F. București, 1972. — 3. MOISESCU ST. — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *XXI*, 3, 167—177. — 4. MOISESCU ST., — *Farmacia (Buc.)*, 1973, XXI, 4, 243—247. — 5. MOISESCU ST., VANGHELIE I., MOISESCU MARIANA — *Farmacia (Buc.)*, 1974, XXII, 6. — 6. RUMȘIȘKII L. Z. — Matematiceskaia obrabotka rezultatov experimenta, Ed. Nauka, Moscova, 1971.

Articol intrat în redacție la 16.III.1974

Indicele de clasificare : 615.752.33

SUMMARY

St. Moisescu, Vasilica Antonescu, I. Vanghelie — THE X-RAY DIFFRACTION METHOD IN THE INVESTIGATION OF SOME SUBSTANCE SYSTEMS OF PHARMACEUTICAL INTEREST. V. THE ACETYLSALICYLIC ACID-ACID SODIUM CARBONATE-WATER (VAPOUR) SYSTEM

Experimental data are reported concerning the stability of acetylsalicylic acid in the presence of one of the basic components of effervescent tablets, sodium acid carbonate.

The values of the apparent rate constants of degradation of the acetylsalicylic acid crystalline networks, obtained by X-ray difraction of the acetylsalicylic acid/sodium carbonate system (0.60/0.40), following conservation in an atmosphere with a relatively high humidity, were processed statistically.

РЕЗЮМЕ

Шт. Моисеску, Василика Антонеску, И. Вангелие — МЕТОД ДИФРАКЦИИ Х-ЛУЧЕЙ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НЕКОТОРЫХ СИСТЕМ ВЕЩЕСТВ ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНТЕРЕС. СООБЩЕНИЕ У. СИСТЕМА: АЦЕТИЛ-САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА-КАРБОНАТ КИСЛЫЙ НАТРИЙ-ВОДА (ПАРЫ)

Излагаются экспериментальные данные относительно стабильности ацетилосалициловой кислоты в присутствии одного из основных компонентов щипучих таблеток кислого карбоната натрия.

Значения констант быстроты процесса разрушения кристаллических сетей ацетилсалициловой кислоты, полученной при помощи метода дифракции X-лучей в отношении системы: ацетилсалициловая кислота — карбонат натрия 0,6/0,40 при хранении в среде высокой относительной влажности подвергается статистической обработке.

Complecși anionici ai B(III) în analiza și controlul medicamentelor. Aplicații în studiul dozării guanetidinei

I. Grecu, M. Bojița

Facultatea de farmacie, Catedra de chimie anorganică, analitică și controlul medicamentelor, I.M.F. Cluj-Napoca

REZUMAT *Se studiază reacția sulfatului de guanetidină cu tetrafenilborura de sodiu (Na-TFB, kalignost, reactivul Witting) în scopul folosirii acesteia la determinarea sulfatului de guanetidină ca atare sau din comprimatele farmaceutice.*

Proprietățile tetrafenilborurii de guanetidină, formate prin acțiunea tetrafenilborurii de sodiu asupra sulfatului de guanetidină, în care raportul de combinare Na-TFB/guanetidină este 1 : 1, permit determinarea gravimetrică, volumetrică și conductometrică a sulfatului de guanetidină.

Metodele propuse sînt ușor de executat, suficient de exacte și folosesc reactivi uzuali.

Sulfatul de guanetidină sau 2-(octahydro-azocinil-1′)-etil-guanidin sulfat se prezintă sub forma unei substanțe cristaline, incolore, fără miros, avînd punctul de topire la 284—285°C. Este ușor solubil în apă (1 : 1,5), puțin solubil în alcool, practic insolubil în eter și cloroform (1, 2, 5).

Din punct de vedere farmacoterapeutic, guanetidina este un hipotensor foarte energic din categoria simpaticoplegicelor selective. Blocînd transmiterea influxului nervos prin fibrele adrenergice postganglionare, inhibă eliberarea și repartizarea noradrenalinei la nivelul terminațiilor simpatice și produce în consecință o importantă scădere a tensiunii arteriale (2, 3, 4). Industria românească de medicamente condiționează sulfatul de guanetidină sub formă de comprimate cu un conținut de 0,010 g principiu activ la un comprimat (6).

Fiind un derivat de guanidină monosubstituită, guanetidina prezintă un caracter bazic accentuat datorită stabilizării ionului de guanetidiniu prin conjugare (7).

Luînd în considerare acest caracter, am preparat săruri ale guanetidinei, cu complecși anionici ai: Cd (II), Hg (II), Fe (II), Fe (III), Co (II), Co (III), Cr (III), B (III), Bi (III), precum și cu acizii: fosfowolframic, fosfomolibdenic, silicowolframic, picric și picrolonic. De asemenea, am elaborat metode gravimetrice, volumetrice, conductometrice, cromatografice și spectrofotometrice de determinare a guanetidinei ca atare sau din comprimate farmaceutice (8, 9, 10).

În prezenta lucrare se studiază reacția sulfatului de guanetidină cu tetrafenilborura de sodiu (Kalignost, Na-TFB, reactivul Witting), aplicată la dozarea gravimetrică, volumetrică și conductometrică a sulfatului de guanetidină.

METODA GRAVIMETRICĂ

Studiind factorii mai importanţi — cantitatea de probă luată în lucru, pH-ul mediului de reacţie, cantitatea reactivului de precipitare adăugat, temperatura de uscare a precipitatului — care trebuie luaţi în considerare pentru a obţine rezultate corespunzătoare, am ajuns la următoarele concluzii :

— determinările se pot efectua, cu rezultate bune, pe probe care conţin cel puţin 30—150 mg sulfat de guanetidină ;

— precipitarea este cantitativă, obţinîndu-se precipitate cristaline uşor de separat prin filtrare în mediu bazic (pH = 9) ;

— uscarea precipitatului trebuie făcută iniţial la încălzire în etuvă la temperatura de 40°C şi apoi, la vid, pînă la greutate constantă ;

— reactivul de precipitare trebuie adăugat în mici porţiuni, sub continuă agitare şi într-o cantitate de o dată şi jumătate mai mare decît cantitatea teoretică calculată.

În aceste condiţii are loc următoarea reacţie de precipitare :

$$(_2GH^+ + SO_4^{2-}) + {}_2(Na^+ + TFB^-) \longrightarrow 2GH.TFB + (2Na^+ + SO_4^{2-}).$$

MODUL DE LUCRU

Cantităţi exact cîntărite de sulfat de guanetidină, cuprinse între 30 şi 150 mg se dizolvă în 40 ml soluţie tampon cu pH = 9 (obţinută prin dizolvarea a 1,9 g $N_2B_4O_7$. 10 H_2O în 500 ml apă distilată). În soluţia obţinută se adaugă 1 g NaCl şi se încălzeşte pe baia de apă la 40°C. Se adaugă apoi, picătură cu picătură şi sub continuă agitare, 60 ml soluţie 10^{-1} M de Na-TFB (aproximativ o dată şi jumătate cantitatea teoretică necesară pentru precipitare). Se observă apariţia unui precipitat alb. Se agită în continuare încă 10—15 minute.

Tabelul I

Rezultate obţinute la dozarea gravimetrică a sulfatului de guanetidină ca atare

Nr. determinării	Sulfat de guanetidină (g)	(GH) TFB cîntărită (g)	Sulfat de guanetidină găsită		Eroare faţă de $\bar{X}$	Rezultatele calculului statistic
			(g)	(%)		
1	0,09094	0,18984	0,09055	99,57	+0,11	$\bar{X} = 99,46$
2	0,10278	0,21417	0,10215	99,37	−0,09	$S = \pm 0,307$
3	0,05273	0,11026	0,05259	99,73	+0,27	
4	0,05875	0,12220	0,05828	99,22	−0,24	$S_{\bar{X}} = 0,089$
5	0,06379	0,13342	0,06364	99,74	+0,28	
6	0,06913	0,14442	0,06888	99,64	+0,18	$\alpha = 0,96$
7	0,12161	0,25043	0,11944	99,03	−0,43	$t\alpha = 2,20$
8	0,08048	0,16820	0,08023	98,68	+0,22	$A = 99,46 \pm 0,20$
9	0,06312	0,13056	0,06227	98,96	−0,50	
10	0,07289	0,15902	0,07258	99,58	+0,14	
11	0,06874	0,14282	0,06814	99,12	−0,34	
12	0,09436	0,19760	0,09425	99,88	+0,42	

Precipitatul se lasă în continuare în repaus pentru sedimentare încă aproximativ 30 de minute la temperatura camerei, după care se filtrează cantitativ printr-un creuzet G_4. Precipitatul de pe filtru se

spală cu filtratul și de 3—4 ori cu un amestec 1 : 5 v/v soluție tampon și soluție Na TFB 10^{-1} M. Se usucă la 40°C la vid pînă la pondere constantă.

Factorul de transformare f = 0,47692, log. f = 1,67849.

Cîteva din rezultatele obținute la determinarea gravimetrică a sulfatului de guanetidină sînt trecute în tabelul I.

Această metodă a fost aplicată și la determinarea sulfatului de guanetidină din comprimate (0,010 g sulfat de guanetidină/comprimat), folosind următoarea tehnică : din pulberea fină obținută prin pulverizarea a 50—60 de comprimate se cîntăresc exact cantități cuprinse între 0,5 și 1,1 g (greutatea medie a unui comprimat ce conține 0,010 g sulfat de guanetidină este 0,120066 g). Probele se dizolvă în 30—40 ml soluție tampon cu pH = 9 și se filtrează cantitativ printr-un filtru G_4 cu tijă. În soluțiile obținute ne adaugă 1 g NaCl și se încălzesc pe baie de apă la 40°C. Se adaugă apoi, în porțiuni mici și sub continuă agitare, 60 ml soluție 10^{-1} M Na-T.F.B. Agitarea precipitatelor formate se continuă încă 10—15 minute. Precipitatele obținute se lasă în repaus, pentru sedimentare, la temperatura camerei, timp de aproximativ 30 de minute, după ce în prealabil au fost răcite la un curent de apă. Se filtrează printr-un creuzet filtrant G_4, se spală precipitatul cu filtratul, cu 10—15 ml amestec format din 1 : 5 părți v/v din soluția Na-TFB 10^{-1} M și soluție tampon și apoi cu 10 ml soluție tampon. Precipitatele se usucă apoi la 40°C și apoi la vid pînă la pondere constantă.

Cîteva din rezultatele obținute la determinarea sulfatului de guanetidină din comprimate sînt trecute în tabelul II.

Tabelul II

Rezultatele obținute la dozarea gravimetrică a sulfatului de guanetidină din comprimate

Nr. determinării	Pulbere de comprimate (g)	$(G)_2.H_2SO_4$ corespunzător	(GH) TFB cîntărit (g)	$(G)_2H_2SO_4$ găsit		comprimat (g)	Eroare față de $\bar{x}$ ($\bar{x}$ = 96,67)
				(%)	(g)		
1	1,06382	0,08811	0,17869	95,48	0,08523	0,009673	−1,19
2	0,84563	0,07008	0,14181	96,52	0,06764	0,009651	−0,15
3	0,67321	0,05579	0,11522	98,49	0,05496	0,009849	+1,82
4	0,45412	0,03764	0,07736	98,03	0,03690	0,009803	+1,36
5	0,46200	0,03829	0,07642	95,19	0,03645	0,009519	−1,48
6	0,52560	0,04356	0,09069	99,31	0,04326	0,009931	+2,61
7	0,74322	0,06150	0,12504	96,65	0,05964	0,009665	−0,02
8	0,56480	0,04681	0,09481	94,46	0,04522	0,009446	−2,21
9	0,73224	0,06068	0,12147	95,32	0,05794	0,009532	−1,35
10	0,92648	0,06849	0,13969	97,28	0,06663	0,009728	+0,61

METODA VOLUMETRICĂ

Menționăm cîteva dintre metodele volumetrice aplicate la dozarea bazelor organice medicamentoase sub formă de tetrafenilboruri.

1. O metodă argentimetrică (12) bazată pe solubilitatea tetrafenilborurilor, bazelor organice medicamentoase în acetonă, spre deosebire de tetrafenilborura de argint care este greu solubilă.

2. Mai multe metode protometrice de titrare în mediu apos sau neapos, care prezintă avantajul folosirii unor cantități mici de bază organică medicamentoasă, de exemplu :

a. Metoda folosită de Flaschke, Holaseck și Amin (13) se bazează pe descompunerea tetrafenilborurilor bazelor medicamentoase cu clorură de Hg (II), în mediu alcalin și la cald, după următoarea reacție :

$$\text{Bază } [B(C_6H_5)_4] + {}_4HgCl_2 \longrightarrow (\text{Bază H})^+ Cl^- + C_6H_5-Hg-Cl + H_3BO_3 + 3HCl.$$

Pentru fiecare moleculă de tetrafenilborură a bazei medicamentoase rezultă trei molecule de acid clorhidric, care poate fi titrat cu hidroxid de sodiu 0,01 N în prezență de roșu de metil.

b. Metoda Gauthier, Renault, Pellerin (14, 15), constă în determinarea tetrafenilborurilor bazelor organice prin tehnica clasică de dozare a sărurilor acizilor slabi în mediu anhidru. În molecula tetrafenilborurilor bazelor medicamentoase organice, baza medicamentoasă prezintă o polaritate bazică mai mare cînd ea se află într-un solvent acid (acid acetic anhidru), iar polaritatea acidă devine neglijabilă. Este astfel posibilă titrarea bazicității bazei organice medicamentoase, precipitată sub formă de tetrafenilborură, cu acid percloric, folosind ca indicator cristal violetul.

3. Metoda Jonson și King (16) este o metodă volumetrică indirectă, bazată pe precipitarea bazei organice medicamentoase cu un exces de soluție titrată de Na-TFB și titrarea excesului de Na-TFB cu o sare cuaternară de amoniu (clorură de cetyl piridinium) în prezența albastrului de brom-fenol ca indicator.

Un studiu comparativ, referitor la aplicarea acestor metode pentru dozarea sulfatului de guanetidină, va fi comunicat ulterior. În cele ce urmează comunicăm rezultatele obținute prin aplicarea metodei argentimetrice (12).

Tetrafenilborura de guanetidină este foarte ușor solubilă în acetonă, pe cînd tetrafenilborura de argint este insolubilă în acest solvent. Este deci posibilă dizolvarea precipitatului de tetrafenilborură de guanetidină în acetonă și titrarea cu azotat de argint în prezența unui indicator de absorbție ca eozina sau fluoresceina. Pentru mărirea sensibilității reacției și evidențierea mai netă a punctului de echivalență, se poate adăuga o cantitate exactă de bromură de potasiu :

$$(2GH^+ + SO_4^{2-}) + 2(Na^+ + TFB^-) \longrightarrow 2(GH)TFB + (2Na^+ + SO_4^{2-})$$

$$(GH)TFB \rightleftharpoons GH^+ + TFB^- \quad \text{dizolvarea în acetonă}$$

$$TFB^- + Ag^+ \longrightarrow Ag\ TFB.$$

(1 echivalent Ag = 1 echivalent TFB = 1 echivalent sulfat de guanetidină).

MODUL DE LUCRU

Cantități exact cîntărite de sulfat de guanetidină (~ 100 mg) se dizolvă în 40 ml soluție tampon cu pH = 9, în prezența a 1 g NaCl. Soluția obținută ce încălzește pe baia de apă la 40°C. Se adaugă apoi, picătură cu picătură și sub continuă agitare, 50—60 ml soluție 10^{-1} M de Na-TFB (aproximativ o dată și jumătate, față de cantitatea teoretică necesară). Precipitatul alb obținut se agită încă 10—15 minute, după care se lasă 30 de minute la temperatura camerei pentru sedimentare. După sedimentare și răcire, precipitatul se filtrează cantitativ printr-un creuzet G_4 cu tijă (sau prin hîrtie de filtru cantitativă) și se spală de mai multe ori cu cîte 4—5 ml apă distilată, pînă ce apele de spălare

nu mai dau opalescență cu ionul de Ag^+. Precipitatul de pe filtru se dizolvă cantitativ în 20—30 ml acetonă, se adaugă apoi 5 ml soluție acid acetic 2 N, 1 ml soluție bromură de potasiu 0,1 N și 2—3 picături dintr-o soluție 1% de eozină sau 4—5 picături dintr-o soluție alcoolică 0,2% de fluoresceină. Se titrează cu o soluție 0,05 N de azotat de argint pînă la virajul brusc în roșu al indicatorului.

Din cantitatea de azotat de argint 0,05 N folosită la titrare se scoate cantitatea consumată (2 ml) de bromură de potasiu.

Cîteva din rezultatele obținute la dozarea argentimetrică a sulfatului de guanetidină sînt date în tabelul III.

Tabelul III

Rezultatele obținute la dozarea argentometrică a sulfatului de guanetidină ca atare

Nr. determinării	Sulfat de guanetidină (g)	Soluție $AgHO_3$ 0,05N întrebuințată la titrare (ml)	Sulfat de guanetidină găsită		Eroare față de $\bar{X}$	Rezultatele calculului statistic
			(g)	(%)		
1	0,08165	6,60	0,08103	99,24	−0,03	$\bar{x} = 99,31$
2	0,10225	8,22	0,10160	99,36	+0,05	$S = \pm 0,64$
3	0,11480	9,21	0,11399	99,30	−0,01	
4	0,11720	9,50	0,11750	100,25	+0,94	$S\bar{x} = 0,18$
5	0,12380	10,08	0,12470	100,72	+1,41	
6	0,09450	7,21	0,09300	98,41	−0,90	$\alpha = 0,95$
7	0,98210	7,87	0,09733	98,87	−0,44	$t\alpha = 2,20$
8	0,11451	9,10	0,11304	98,73	−0,58	
9	0,12946	10,41	0,12883	99,51	+0,20	$A = 99,31 \pm 0,39$
10	0,10648	8,56	0,10592	99,47	+0,16	
11	0,09126	7,28	0,09002	98,64	−0,67	
12	0,09051	7,23	0,08982	99,23	+0,08	

Metoda a fost aplicată și la dozarea sulfatului de guanetidină din comprimate. S-au luat pentru o probă 8—13 comprimate, care s-au dizolvat în 40—50 ml soluție tampon cu pH=9. Suspensia obținută s-a filtrat cantitativ printr-un filtru G_4 cu tijă. În soluție s-a adăugat 1 g NaCl și în continuare s-a procedat după modul de lucru descris anterior.

Cîteva din rezultatele obținute la dozarea argentimetrică a sulfatului de guanetidină din comprimate sînt redate în tabelul IV.

Tabelul IV

Rezultatele obținute la dozarea argentometrică a sulfatului de guanetidină din comprimate

Nr. determinării	Nr. comprimatelor luate în lucru	$(G_2).H_2SO_4$ corespunzător (g)	$(G)_2.H_2SO_4$ găsit			Eroare față de $\bar{X}$ ($\bar{X}$ = 98,42)
			(%)	(g)	/comprimat (g)	
1	11	0,1100	96,85	0,10654	0,00968	−1,57
2	9	0,0900	93,68	0,08432	0,00937	−4,74
3	10	0,1000	92,67	0,09267	0,00927	−5,75
4	8	0,0800	105,80	0,08464	0,01058	+7,38
5	12	0,1200	98,53	0,11824	0,00985	+0,11
6	13	0,1300	97,52	0,12678	0,00975	−0,90
7	8	0,0800	90,70	0,07256	0,00907	−8,42
8	9	0,0900	104,80	0,09432	0,01048	+5,38
9	10	0,1000	95,58	0,09558	0,00956	−2,84
10	11	0,1100	108,05	0,11886	0,01080	+9,53

METODA CONDUCTOMETRICĂ

În titrarea sulfatului de guanetidină cu soluţia apoasă a Na-TFB are loc următoarea reacţie de precipitare, însoţită de variaţia conductibilităţii soluţiei :

$$(2GH^+ + SO_4^{2-}) + 2(Na^+ + TFB^-) \longrightarrow 2(GH)\ TFB + (2Na^+ + SO_4^{2-}).$$

La titrarea conductometrică am folosit probe (10—20 ml) dintr-o soluţie 10^{-2} M de sulfat de guanetidină şi ca reactiv de titrare o soluţie 10^{-1} M de Na-TFB. Determinările au fost efectuate la temperatura de 22°C cu un conductometru O. K. 102-Radelkiess, cu electrod de platină în formă de clopot. S-a lucrat în prezenţa unei soluţii tampon (pH=9).

MODUL DE LUCRU

S-a preparat o soluţie sulfat de guanetidină 10^{-2} M, prin dizolvare în soluţie tampon pH=9 (T=0,005200). Din aceasta s-au luat diferite probe cuprinse între 10 şi 20 ml (50—100 mg sulfat de guanetidină). Pentru titrare s-a folosit o soluţie recent preparată de Na-TFB cu titru (T = 0,05240) cunoscut (determinat cu o sare de K^+) (17, 18).

Reactivul de titrare (precipitare) s-a adăugat în porţiuni mici 0,1—0,2 ml, dintr-o microbiuretă, agitînd continuu, mecanic, soluţiile.

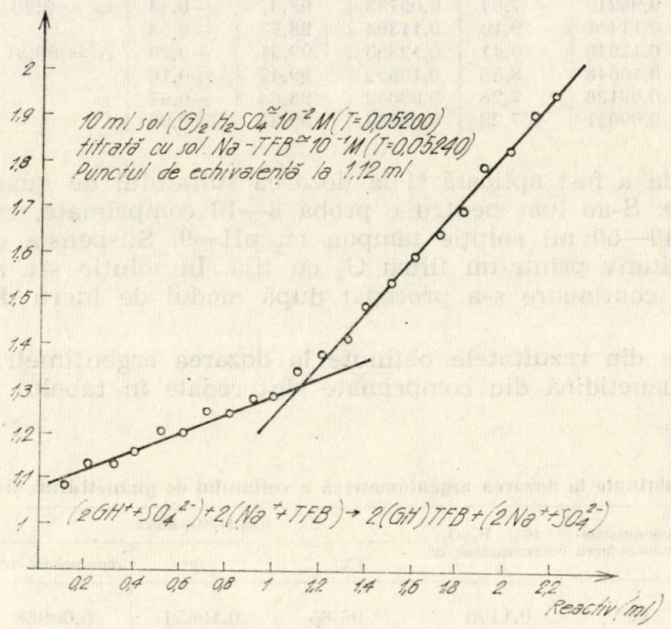


Fig. 1. — Titrarea conductometrică a sulfatului de guanetidină cu tetrafenilborura de sodiu

Citirile pe scala conductometrului au fost efectuate la intervale de 3 minute.

În figura 1 reprezentăm una din curbele de titrare conductometrică. Pe abscisă am reprezentat volumul (ml) de reactiv adăugat (so-

luție 10^{-1} M de Na-TFB), iar pe o ordonată, conductibilitatea. Se observă pe diagramă o creștere a conductibilității soluției ca urmare a înlocuirii ionului GH^+ cu ionul Na^+, ion cu mobilitate mai mare. După echivalență, creșterea conductibilității este mai accentuată ca urmare a excesului de reactiv. Din curba de titrare se observă de asemenea că raportul de combinare sulfat de guanetidină : tetrafenilborură de Na este 1 :1.

Această metodă a fost aplicată și la dozarea sulfatului de guanetidină din comprimate, pentru o probă luîndu-se în lucru 5—10 comprimate. Pulberea obținută prin pulverizarea comprimatelor se dizolvă în 10—15 ml soluție tampon, iar suspensia obținută se filtrează printr-un creuzet filtrant G_4 cu tijă (sau hîrtie de filtru cantitativă). Operația se repetă de 3—4 ori, la sfîrșit se spală filtrul cu 3—4 ml soluție tampon (pH=9). În soluția obținută după filtrare se execută apoi titrarea conductometrică.

Cîteva din rezultatele determinărilor conductometrice a sulfatului de guanetidină ca atare sînt date în tabelul V, iar cele obținute din comprimate, în tabelul VI (greutatea medie a unui comprimat este 0,12066 g).

Tabelul V

Rezultatele obținute la dozarea conductometrică a sulfatului de guanetidină ca atare

Nr. determinării	Soluție $(G_2)H_2SO_4$ 10^{-2} M (ml) (T = 0,005200)	$(G)_2.H_2SO_4$ /probă	Soluție Na TFB întrebuințată la titrare (ml)	$(G)_2.N_2SO_4$ găsit		Eroare față de $\bar{X}$ $\bar{X}$(= 99,22)
				(g)	(%)	
1	11	0,05720	2,32	0,0580	101,30	+2,08
2	12	0,06240	2,46	0,0616	98,72	−0,48
3	13	0,06760	2,65	0,0663	98,01	−1,19
4	14	0,07280	2,73	0,0730	99,72	+0,52
5	15	0,0770	3,06	0,0765	99,35	−0,37
6	16	0,08220	3,32	0,0830	100,09	+0,46
7	17	0,08840	3,56	0,0890	100,68	+0,98
8	18	0,09360	3,68	0,0920	98,28	−0,93
9	19	0,09880	3,91	0,0978	98,98	−0,24
10	20	0,1030	4,00	0,1000	97,08	−2,14

Tabelul VI

Rezultatele obținute la dozarea conductometrică a sulfatului de guanetidină din comprimate

Nr. determinării	Nr. comprimate în lucru	$(G)_2H_2SO_4$ /probă	Soluție Na TFB întrebuințată la titrare (ml)	$(G)_2H_2SO_4$ găsit			Eroare față de $\bar{X}$ ($\bar{X}$ = 98,85)
				(%)	(g)	/comprimat (g)	
1	6	0,060	2,28	95,00	0,057	0,00950	−3,85
2	7	0,070	2,64	94,28	0,066	0,00943	−4,61
3	8	0,080	3,21	97,50	0,078	0,00975	−1,35
4	9	0,090	3,68	102,20	0,092	0,01022	+3,35
5	10	0,100	3,88	97,00	0,097	0,00970	−1,85
6	11	0,110	4,52	102,27	0,113	0,01023	+3,42
7	12	0,120	4,88	101,66	0,122	0,01017	+2,81
8	13	0,130	5,04	96,92	0,126	0,00969	−1,93
9	10	0,100	3,92	98,00	0,098	0,00980	−0,85
10	11	0,110	4,56	103,63	0,114	0,01036	+4,78

CONCLUZII

S-a studiat reacția dintre sulfatul de guanetidină și tetrafenilborura de sodiu. Se descriu noi metode — gravimetrice, volumetrice și conductometrice — de dozare a sulfatului de guanetidină, bazate pe formarea tetrafenilborurii de guanetidină insolubilă în apă. Metodele aplicate, sînt pe substanța pură, cît și pe comprimate, sînt suficient de exacte, ușor de executat și folosesc reactivi uzuali.

BIBLIOGRAFIE

1. GRECU I., ENESCU L. — Ghidul farmacistului practician, Ed. medicală, București, 1967, p. 88, 210.
2. * * * — Symposium on guanethidine, Ismelin, Published by Ciba, 1960.
3. ILIESCU C. C. și colab. — Tratamentul actual al hipertensiunii arteriale, Simpozionul „Hipertensiunea arterială", Timișoara, 16—17.XI.1962.
4. HERTEANU H. — Tratamentul hipertensiunii arteriale cu guanetidină, Teză de doctorat, I.M.F. București, 1963.
5. * * * — Remington's Pharmaceutical Sciences, Ed. Mack Publishing Company Easton, ed. a 13-a, Pensylvania, 1965, p. 988.
6. * * * — Produse farmaceutice românești, Ed. medicală, București, 1970, p. 309.
7. NENIȚESCU C. D. — Tratat de chimie organică, vol. I, Ed. didactică și pedagogică, București, 1969, p. 152.
8. GRECU I., BOJIȚĂ M. — *Farmacia (Buc.)*, 1970, *13*, 10, 599—604.
9. GRECU I., BOJIȚĂ M. — *Rev. Chim.*, 1970, *21*, 10, 642—644.
10. GRECU I., BOJIȚĂ M. — Lucrările celei de a III-a Conferințe naționale de chimie analitică, Brașov, 22—26.IX.1971, vol. I (Metode electrochimice), p. 177—182.
11. BONARD J. — *J. pharm. belg.*, 1971, *2*, 135—165.
12. SCHULTZ O. E., GOERNER H. N. — *Angew. Chem.*, 1954, 66, 638.
13. FLASCHKE H., HOLASECK A., AMIN A. M. — *Arzneimittel Forsch.*, 1954, 1, 38.
14. GAUTIER J. A., RENAULT J., PELLERIN F. — *Ann. pharm. franç.*, 1956, 14, 337.
15. GAUTIER J. A., RENAULT J., PELLERIN F. — *Ann. pharm. franç.*, 1955, 13, 725.
16. JOHNSON C. A., KING R. E. — *J. Pharm. Pharmacol.*, 1962, 14, 77.
17. REFF R., BROTZ M. — *Z. Anal. Chem.*, 1951, 133, 241.
18. PFLAUM C., HOWICK P. — *Anal. Chem.*, 1956, 29, 1 542.

Articol intrat în redacție la : 14.XI.1973.

Indicele de clasificare : 615.717—014.3

SUMMARY

I. Grecu, M. Bojiță — B(III) ANIONIC COMPLEXES IN THE ANALYSIS AND CONTROL OF DRUGS. APPLICATIONS IN THE DETERMINATION OF GUANETIDIN

Investigations were carried out on the reaction between guanetidin sulfate sodium tetraphenylboride on guanetidin sulfate, at a Na-TBP/guanetidin ratio of using it for the determination of guanetidine sulfate as such or in pharmaceutical tablets.

The properties of guanetidin tetraphenylboride formed by the action of sodium tetraphenylboride on guanetidin sulfate, at a Na-TPB/guanetidin ratio of 1 :1, permit the gravimetric, volumetric and conductometric determination of guanetidin sulfate.

The test is readily performed, sufficiently accurate, using the conventional reagents.

РЕЗЮМЕ

И. Греку, М. Божицэ — АНИОНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ B(III) ПРИ АНАЛИЗЕ И КОНТРОЛЕ МЕДИКАМЕНТОВ. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ГУАНЕТИДИНА

Автчры исследовали реакцию сульфата гуанетидина с тетрафенил борным натрием (Na-TFB, калигност, реактив Уиттига) для его использования при опрделении сульфата гуанетидина как такового или же в аптечных таблетках.

Свойства тетрафенил бората гуанитидина, образовавшиеся при действии тетрафенилборного натрия на сульфат гуанетидина, при котором отношения комбинации Na-TFB — гуанетидин равно I:I позволяют производить гравиметрическое, волюметрическое и кондуктометрическое определения сульфата гуанетидина.

Предлагаемый метод легко осуществляется, он является достаточно точным и при его применении пользуются обычным реактивами.

MANIFESTĂRI ŞTIINŢIFICE NAŢIONALE CU PARTICIPARE INTERNAŢIONALĂ PE ANUL 1975

Nr. crt.	Societatea organizatoare	Tematica manifestării	Localitatea şi data
1	Societatea de Oncologie	Al II-lea Congres Naţional cu tema : — Stadii avansate loco-regionale nemetastatice ale neoplaziilor în clinică şi experimentare — Simpozion cu tema : Modele experimentale de imunoterapie în cancer	Bucureşti 29—31 mai-
2	Societatea de O.R.L.	Al III-lea Congres Naţional cu tema : — Chirurgia reconstructivă şi plastică în O.R.L.	Piatra Neamţ 4—6 sept.
3	Societatea de Fiziologie	Congres Naţional cu temele : — Mecanismele de reglare şi integrare a funcţiilor organismului în condiţii normale şi patologice ; — Organismul şi mediul ambiant ; — Fiziologia efortului profesional şi sportiv	Bucureşti 10—12 sept.
4	Secţia de Bacteriologie	Simpozion cu tema : — Leptospiroze, leptospire şi alte spirochete	Bucureşti 25—27 sept.
5	Societatea de Pneumologie şi Ftiziologie	A XI-a Conferinţă Naţională cu temele : — Orientări actuale în profilaxia tuberculozei ; — Regimuri moderne de chimioterapie antituberculoasă cu largă aplicabilitate ; — Broncho-pneumopatie obstructivă cronică	Bucureşti 9—10 oct.
6	Societatea de Ortopedie die şi Traumatologie	Al II-lea Congres Naţional cu temele : — Diagnosticul şi tratamentul în tumorile osoase ; — Recuperarea funcţională în leziunile vechi posttraumatice ale genunchiului ; — Tratamentul fracturilor trohanteriene	Bucureşti 15—17 oct.

DIN ACTIVITATEA U.S.S.M.

CONSFĂTUIREA DE FARMACIE „PROBLEME ACTUALE ALE PREPARĂRII MEDICAMENTELOR ÎN FARMACIE"

În 26.X.1974 s-a desfăşurat la Tîrgu Mureş Consfătuirea cu tema: „*Probleme actuale ale preparării medicamentelor în farmacie*", organizată în întîmpinarea celui de al XI-lea Congres al Partidului Comunist Român de către Secţia de farmacie, filiala Mureş, din cadrul Uniunii societăţilor de ştiinţe medicale.

La această prestigioasă manifestare ştiinţifică au participat peste 350 de farmacişti, cadre didactice din Cluj-Napoca, Iaşi, Bucureşti şi alte centre universitare, cercetători, medici, studenţi ai Facultăţii de farmacie. În program au fost înscrise 26 de comunicări, care s-au prezentat după cuvîntul de deschidere şi salutul adresat oaspeţilor de către prof. G. Rácz, decanul Facultăţii de farmacie din Tîrgu Mureş. În continuare, în raportul prezentat de prof. Ionescu Stoian (I.C.S.M.C.F. Bucureşti), intitulat „Actualităţi în Farmacopeea română, ed. a IX-a", participanţii au fost informaţi asupra progreselor, noutăţilor tehnice şi a modificărilor care vor apărea în monografiile următoarei ediţii a farmacopeei. Deosebit de interesante au fost conferinţele „Aerosilul în tehnica farmaceutică", prezentată de conf. I. Ban (I.M.F. Cluj-Napoca) şi „Contribuţia farmacistului în producţia cosmetică", prezentată de conf. A. Rub-Saidac (I.M.F. Cluj-Napoca).

Lucrările prezentate în continuare s-au bazat în mare majoritate (50%) pe contribuţia adusă în ameliorarea tehnologiei de preparare, control sau aparatură, de către farmaciştii, practicieni din municipiul şi judeţul Mureş sau alte judeţe (Alba, Teleorman, Braşov) cît şi pe cercetări cu caracter aplicativ efectuate de cadre didactice din centrele universitare menţionate.

Consfătuirea a permis, prin orientarea tematică propusă şi prin nivelul ştiinţific al lucrărilor, realizarea unui larg schimb de opinii între specialiştii care activează în diferitele domenii ale studiului medicamentelor din ţara noastră. Redăm în continuare concluziile formulate cu această ocazie:

1. Majoritatea lucrărilor prezentate se încadrează ca orientare tematică în directivele de Partid şi ale Academiei de ştiinţe medicale.

2. Valorificarea superioară în preparatele farmaceutice a unor excipienţi de origine animală, ca: studiul şi caracterizarea fizico-chimică a grăsimii de vizon în preparate cosmetice, introducerea unor emulgatori alimentari, utili la prepararea emulsiilor, unguentelor sau supozitoarelor sau utilizarea aerosilului în diferite forme farmaceutice, probleme care trebuie să stea în atenţia cercetătorilor, în vederea substituirii produselor de import cu produse indigene.

3. Cercetarea stabilităţii chimice şi activităţii unguentelor conţinînd diferite substanţe active, ca antihistaminice, citostatice, antibiotice (Meticilină, Oxacilină) sau corticosteroizi, este necesară în vederea selecţionării unui transportor adecvat stabilităţii şi acţiunii optime.

4. Este necesară intensificarea eforturilor pentru realizarea medicamentelor pentru uz pediatric în forme stabilizate (siropuri cu vitamina C, complexul B, fier, suspensii realizate din pulberi compuse cu penicilina V, ampicilină, eritromicină etc.).

5. Se propune un aparat pentru demineralizarea apei, care este aplicabil în oricare farmacie în cazul în care conţinutul de amoniac al apei distilate depăşeşte prevederile farmacopeei.

6. În domeniul preparării soluţiilor oftalmice este necesar:

— să se aplice tehnica preconizată, adică utilizarea apei fierte şi răcite şi adăugarea unui conservant care să posede capacitate bactericidă;

— în noua farmacopee va figura o soluție oftalmică de bază, fără soluție tampon, care s-a constatat că este dureroasă pentru ochi ;

— conservanții utilizați să asigure sterilitatea preparatului în decurs de o oră. Se va prefera boratul fenilmercuric 1 : 50 000 și se va evita utilizarea clorurii de benzalconiu ;

— se vor evita colirele cu sulfacetamida sodică.

7. Se impune uniformizarea terminologiei utilizate de corpul medical și farmaceutic. Se propune :

— să se utilizeze termenul de reacții adverse cînd este vorba de efecte secundare nocive ;

— reacțiile care se petrec *in vivo* să se denumească „interacțiuni" ;

— reacțiile care au loc într-o formă farmaceutică să se încadreze între incompatibilitățile farmaceutice.

8. Să se acorde o importanță deosebită problemelor de iatrogenie. Farmacovigilența sa constituie o preocupare pentru farmaciști, care să fie pionierii și propagandiștii ei în rîndul corpului medical. Țara noastră s-a afiliat la O.M.S., alături de alte 20 de țări, în lupta pentru depistarea efectelor nocive ale medicamentelor, iar farmaciștilor le revine rolul de a stimula interesul corpului medical, de a strînge cît mai multe informații despre comportarea medicamentului și de a fi la curent cu conținutul noii publicații *„Farmacovigilența"*.

9. De o importanță deosebită în practica farmaceutică este realizarea în condiții optime a soluțiilor injectabile. Se va acorda o atenție sporită stabilității chimice, a conservării microbiologice, a filtrării în condiții adecvate a medicamentelor injectabile.

10. Consfătuirea a trezit interes prin tematica abordată, participarea a fost deosebit de bună, a existat un entuziasm și o legătură între cadrele didactice și farmaciștii practicieni, consfătuirea atingîndu-și astfel scopul urmărit.

Conf. ADRIAN POPOVICI
Secretarul Secției de farmacie, Filiala Mureș

FILIALA CONSTANȚA

CONSFĂTUIREA DE FARMACIE
cu tema
„Reacțiile adverse ale medicamentelor și farmacovigilența — probleme de imediată actualitate medicală"
Mamaia, 11.V.1974

1. Descoperirea continuă de medicamente noi, unele fiind deosebit de active și avînd foarte numeroase contraindicații, duce la apariția unui număr crescut de reacții adverse, ceea ce reclamă o farmacovigilență sporită.

2. Consumul de medicamente, în special la grupele terapeutice de mare pondere, cunoaște valori mai mari, dar acestea nu se datoresc automedicației.

3. Colaborarea profesională permanentă dintre medic și farmacist poate preveni accidentele și reacțiile adverse ale medicamentelor.

4. Antibioterapia, prin ponderea pe care o are în terapeutica modernă, ocupă unul dintre primele locuri între medicamentele generatoare de reacții adverse.

5. Necesitatea asocierii antibioticelor în diverse tratamente, ca și capitalul biologic al bolnavului, constituie factori care sporesc frecvența și severitatea reacțiilor adverse.

6. Terapia orală cu preparate medicamentoase pe bază de fier trebuie instituită acolo unde o reclamă carențele în fier ale organismului, asemenea preparate nu trebuie să se administreze ca tonice generale, pentru a nu antrena reacții adverse nedorite.

7. Terapia parenterală cu preparate de fier reclamă o atenție și mai sporită, știute fiind formele grave pe care le îmbracă reacțiile adverse, ceea ce

impune să se facă o anamneză atentă asupra tratamentelor anterioare cu produse pe bază de fier, pentru a preveni reacţiile anafilactice. Administrarea intravenoasă a fierului zaharat este bine să se facă numai în staţionar, sub supraveghere medicală atentă.

8. Administrarea preparatelor steroidice, în cazul unui tratament de lungă durată trebuie să fie instituită numai în urma unor examene clinice atente şi a unor investigaţii corespunzătoare de laborator.

9. Utilizarea în tratamente externe a unor preparate antifungice, tip Buclosamid, ca şi a sulfamidelor şi a substanţelor de grup numit „para" (procaină, anilină şi altele), deoarece determină fotoalergii, să se facă numai în urma unei anamneze minuţioase şi cu fotoprotecţie riguroasă.

10. Pentru evitarea reacţiilor adverse, utilizarea parenterală a produselor de contrast pe bază de iod, în investigaţia gineco-urologică trebuie să se facă printr-o individualizare corectă, în funcţie de variabilitatea simptomelor adverse, de cronologia apariţiilor şi de aspectul evolutiv.

11. Reacţiile adverse ale medicamentelor capătă o şi mai mare gravitate atunci cînd este vorba de femeia gravidă, ştiut fiind pericolul malformaţiilor pe care acestea le pot cauza.

12. Reacţiile adverse ţin deopotrivă de acţiunea medicamentelor, cît şi de sensibilitatea particulară a fiecărui subiect, aceasta trebuie să fie permanent în atenţia medicului.

13. Cunoaşterea perfectă a medicamentelor, acurateţea tratamentului, atenţia şi supravegherea medicală competentă pot contribui cu mult succes la prevenirea, limitarea sau eliminarea completă a reacţiilor adverse ale medicamentelor.

14. Este necesar să fie impulsionate toate secţiile medicale antrenate în acţiunea de farmacovigilenţă, pentru detectarea şi raportarea reacţiilor adverse.

15. La raportul de gardă, în fiecare secţie de spital, trebuie discutate şi analizate reacţiile adverse apărute de la o zi la alta, pentru a fi cunoscute de toate cadrele interesate şi pentru luarea măsurilor de prevenire în viitor.

16. Cunoaşterea reacţiilor adverse trebuie să facă obiectul dezbaterilor ştiinţifico-profesionale, pe bază de rapoarte şi comunicări, în secţiile şi cercurile filialelor U.S.S.M.

17. Este necesar să se extindă continuu cercetările în domeniul cunoaşterii reacţiilor adverse la medicamente.

18. Se impune o activitate din ce în ce mai susţinută, sub acest aspect, din partea farmaciştilor şi medicilor, care trebuie să depisteze reacţiile adverse şi să le comunice centrelor de referinţă, prin nucleele locale de farmacovigilenţă.

Farm. pr. ST. CISMARU
Director al Oficiului farmaceutic — Constanţa

FILIALA SIBIU

Secţia de farmacie

Şedinţa din 17.XI.1973

Consfătuirea de farmacie cu tema :

Aspecte actuale ale unor forme farmaceutice de uz extern, Sibiu, 17 noiembrie 1973.

Concluzii :

Din lucrările prezentate şi în urma discuţiilor purtate au reieşit următoarele concluzii :

1. S-a considerat necesar să se abordeze o tematică axată pe problematica unor forme farmaceutice de uz extern, deoarece aceste forme farmaceutice de

uz extern au fost oarecum neglijate ; îmbogățirea arsenalului de substanțe medicamentoase cu specificitate în medicația nazală și a organului cutanat, precum și lărgirea considerabilă a gamei de excipienți au generat o serie de progrese tehnologice și terapeutice, de care trebuie să se țină seama în practică.

2. Pentru farmacist, de cea mai mare importanță este cunoașterea aprofundată a materiilor prime, adică a substanțelor medicamentoase și ajutătoare, precum și a excipienților din care se obțin formele farmaceutice. Pe baza cunoașterii și interpretării caracterelor structural-moleculare se pot realiza forme farmaceutice stabile, active, cu o biodisponibilitate adecvată ; numai astfel pot fi interpretate și în același timp pot să se întrevadă interacțiunile dintre componentele asociate într-un preparat medicamentos ; numai astfel poate fi interpretată farmacinetica medicamentului, de la resorbție, distribuție, metabolizare și pînă la excreție.

Lucrările Consfătuirii au ridicat unele probleme de ordin teoretic și practic :

— a ieșit în evidență modul de abordare a problemelor studiate, în sensul urmăririi efectelor terapeutice a formelor elaborate de farmacist, la patul bolnavului ;

— trebuie să se pună cu mai multă acuitate problema stabilității unor substanțe medicamentoase disperesate în erine sau unguente : vitamina A, tetraciclina para-amino-salicilică etc. ;

— s-a urmărit în mod comparativ influența excipienților ca transportori ai substanțelor medicamentoase, stabilindu-se unele concluzii cu caracter aplicativ ;

— problema utilizării P.E.G.-urilor a fost abordată în lumina ultimelor date, trebuind să se insiste mai mult asupra incompatibilităților lor.

3. S-au arătat caracterele pe care trebuie să le îndeplinească picăturile de nas pentru a nu influența negativ funcțiile fiziologice ale mucoasei nazale : izotonia, pH-ul, asocierea substanțelor active medicamentoase, conservanții :

— s-a recomandat înlocuirea apei ca vehicul cu soluție de glucoză 5%, la care să se adauge metilceluloză 1% ;

— s-a recomandat renunțarea la folosirea uleiului de parafină și înlocuirea lui cu uleiul de floarea soarelui neutralizat și sterilizat ;

— s-a recomandat înlocuirea la unguentele nazale a vaselinei cu hidrogeluri.

4. Pentru a contribui la utilizarea pe scară largă a excipienților moderni, se indică posibilitățile de folosire a P.E.G. la prepararea formelor farmaceutice pentru uzul extern.

S-au indicat, la fiecare din substanțele medicamentoase active utilizate frecvent în practica dermatologică, formulele cele mai adecvate de preparare a unguentelor pe bază de polietilenglicoli, precum și avantajele acestora față de unguentele preparate cu baze clasice : lanolină, vaselină.

5. S-au arătat posibilitățile de înlocuire a unor unguente tipizate, prin elaborarea lor la nivel de farmacie, folosind baze de unguent de tip P.E.G.

Pentru a contribui la îmbunătățirea calității formei medicamentoase, prin folosirea judicioasă a P.E.G., se impune cu necesitate o colaborare strînsă între medicul specialist și farmacist.

6. S-a stabilit necesitatea aplicării unei asepsii riguroase la prepararea unguentelor oftalmice, cu alegerea adecvată a bazei de unguent în scopul de a obține efecte optime de cedare a substanțelor active.

În încheiere, s-a subliniat interesul manifestat de cadrele farmaceutice pentru manifestări științifice cu tematică legată de activitatea profesională practică și s-a propus ca și în viitor tematica manifestărilor de farmacie să abordeze teme de actualitate practică și de graniță cu specialitățile medicale.

FILIALA TG. MUREŞ

Secţia de farmacie

Şedinţa din 1.XI.1973

1. Asist. Viorica Kovacs, prof. dr. L. Kekedy — Studiu comparativ polarografic al complecşilor de Cd^{2+} şi Zn^{2+} cu diferiţi xantogenaţi.
2. Asist. univ. dr. I. Papp — Observaţii pe marginea testelor de cedare prin difuziune din geluri.
3. Asist. univ. Maria Aytay — Mecanismul de acţiune toxicologică a ierbicidului 2-4 diclor fenoxiacetic (Diclodon).
4. Asist. univ. I. Mathé, prof. dr. G. Racz — Studiul cromatografic al substanţelor nucilaginoase din Hibiscus trionium.

Şedinţa din 29.XI.1973

1. Farm. Ildiko Marossy — Incompatibilităţi în picături nazale.
2. Conf. dr. A. Kiss, asist. univ. I. Czegeni, asist. univ. L. Albert, biol. Iulia Both — Sinteza şi studiul unor noi derivaţii sidnonici.
3. Asist. univ. L. Albert, asist. univ. I. Kuhn, R. Tassaly — Sinteza şi studiul unor esteri nitrici cu acţiune vasodilatatoare.
4. Dr. Eva Szanto, conf. dr. L. Adam, dr. Gered Jolan, dr. L. Domokos — Contribuţii la prepararea unei soluţii auriculare de Stamicin.

CONTENTS

Page

Original Works. Experimental Investigations

I. Formanek, L. Domkos, G. Horvath — *Investigations on the Antibiotic Action of Madder Products (Rubia tinctorium L.)* 1

Elena Curea, Mirela Martinovici — *Thin Layer Chromatography and Spectrophotometry in UV Light in the Qualitative and Quantitative Analysis of Drugs. III. The Determination of Promethazine in Drug Mixtures* 7

Ecaterina Andronescu, Simona Silberg, A. Radu — *Changes in the Interphase Nucleus under the Action of Thiazol Cytostatics (Inverstigations in the Electron Microscope)* 13

Gh. Morait, V. Turculeț — *Contributions to the Analytical Study of Alkaloids. VI. A New Method for the Complexonometric Determination of Quinine and Its Salts* 19

D. Oțeleanu, Maria Agnes Dimitriu — *New Derivatives with a Biologic Activity of the 2-(p-toluene-sulfonamide)-5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazol Series* 25

I. Popa — *Chromatographic Separation of Meprobamate from Biologic Material* 31

Ioana Șaramet — *Investigations on the Cycling of N_1-acyl-N_4-aryl-thiosemicarbazide. The Synthesis of New 1,3,4-thiadiazol 2,5-disubstitutes of Therapeutical Interest* 35

St. Moisescu, Vasilica Antonescu, I. Vanghelie — *The X-ray Difraction Method in the Investigation of Some Substance-Systems of Pharmaceutical Interest. V. The Acetylsalicylic Acid — Acid Sodium Carbonate Water (Vapour) System* 43

I. Grecu, M. Bojiță — *B(III) Anionic Complexes in the Analysis and Control of Drugs. Applications in the Determination of Guanetidin* . . 49

From the Activity of the U.S.S.M.

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные работы. Экспериментальные исследования

И. Форманек, Л. Домкос, Г. Хорват — *Исследование антибиотического действия препаратов марены (Rubia tinctorum L.)* 1

Елена Куря, Мирела Мартинович — *Тонкослойная хроматография и спектрофотометрия в УФ при качественном и количественном анализе лекарственных препаратов. Сообщение III. Определение прометазина в лекарственных смесях* 7

Екатерина Андронеску, Симона Зильберг, А. Раду — *Изменение интерфазового ядра при действии некоторых цитостатических тиазоловых препаратов (электронномикроскопические исследования)* 13

Г. Мораит, В. Туркулец — *К вопросу анализа алкалоидов. Сообщение VI. Новый метод комплексонометрического количественного определения хинина и его солей* 19

Д. Оцеляну, Мария-Агнес Димитриу — *Новые производные ряда 2-(р-толуен-сульфонамидо)-5-р-меркапто-1,3,4-тиадиазолов, обладающих биологической деятельностью.* 25

И. Попа — *Хроматографическое исследование мепробамата в биологическом материале* 31

Ичана Шарамет—*Исследов анияпо вопросу циклизации некоторых N_1-ацил-N_4 арилтиосемикарбазидов. Синтез некоторых новых дважды замешенных 1,3,4-тиозидазолов 2,5 представляющих терапевтический интерес* 35

Шт. Моисеску, Василика Антонеску, И. Вангелие — *Метод дифракции Х-лучей при исследовании некоторых систем представляющих фармацевтический интерес. Сообщение У. Система: ацетил-салициловая кислота, карбонат натрия-вода (пары)* 43

И. Греку, В. Божицэ — *Анионовые комплексы B(III) при анализе и контроле лекарственных препаратов. Использование при количественном определении гуанетидина* 49

Из деятельности Объединения обществ медицинских наук

1975 DEC 02

SUMAR

Pag.

Lucrări originale. Cercetări experimentale

I. Formanek, L. Domokos, G. Horváth — *Cercetări privind acțiunea antibiotică a preparatelor de roibă (Rubia tinctorum L.)* 1

Elena Curea, Mirela Martinovici — *Cromatografia în strat subțire și spectrofotometria în U.V. în analiza calitativă și cantitativă a medicamentelor. III. Determinarea prometazinei din amestecuri medicamentoase* . 7

Ecaterina Andronescu, Simona Silberg, A. Radu — *Modificări ale nucleului interfazic sub acțiunea unor substanțe citostatice tiazolice (cercetări electronomicroscopice)* 13

Gh. Morait, V. Turculeț — *Contribuții la studiul analitic al alcaloizilor. VI. O nouă metodă de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale* 19

D. Oțeleanu, Maria Agnes Dimitriu — *Noi derivați din seria 2-(p-toluensulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu activitate biologică* . 25

I. Popa — *Cercetarea cromatografică a meprobamatului din material biologic* . 31

Ioana Șaramet — *Cercetări asupra ciclizării unor N_1-acil-N_4-aril-tiosemicarbazide. Sinteza unor noi 1,3,4-tiadiazoli 2,5-disubstituiți de interes terapeutic* 35

St. Moisescu, Vasilica Antonescu, I. Vanghelie — *Metoda difracției de raze X în cercetarea unor sisteme de substanțe de interes farmaceutic. V. Sistemul acid acetilsalicilic-carbonat acid de sodiu-apă (vapori)* . . . 43

I. Grecu, M. Bojița — *Complecși anionici ai B(III) în analiza și controlul medicamentelor. Aplicații în studiul dozării guanetidinei* 49

Din activitatea U.S.S.M.

„Taxele poștale achitate conform aprobării D.G.P.Tc. Nr. 137/5736/1974"

EDITURA MEDICALĂ

I. P. „Informația" — c. 141

41 500

Lei 6

E 2159

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

REFERALNA

COLEGIUL DE REDACȚIE:

Redactor responsabil:	prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct:	prof. V. STĂNESCU
Secretari de redacție:	farm. VASILICA ANTONESCU
	conf. ST. TĂMĂȘDAN

MEMBRI:

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEȘAN (Cluj-Napoca), farm. ANA BERECHET, prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FÎRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, conf. D. MONCIU, conf. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, conf. D. OȚELEANU, conf. I. POPA, farm. NICULINA POPA, farm. V. POPOVICI (Timișoara), conf. E. PUȘCARU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV

2

APRILIE — IUNIE 1975

ÎN ATENȚIA AUTORILOR

1. Articolele se trimit în dublu exemplar, scrise la mașină la două rînduri, cu viza și prin intermediul filialei U.S.S.M., pe adresa: Uniunea Societăților de Științe Medicale, pentru Redacția revistelor, str. Progresului nr. 8, sectorul VII, București. Autorii vor face corectarea dactilografierii materialului trimis.

2. Se va menționa data comunicării lucrării în ședința Secției de specialitate a U.S.S.M. Articolele vor purta în mod obligatoriu semnătura autorilor și adresa lor exactă, pentru corespondență și retribuție.

3. După titlul articolului, autorii vor indica: numele exact și prenumele în întregime, titluri științifice sau funcția în specialitate, institutul, spitalul sau unitatea unde a fost realizată lucrarea, precum și numele conducătorului instituției. La sfîrșitul articolului se pot insera discuțiile și aprecierile făcute lucrării în ședința de comunicări științifice.

4. Articolele nu vor depăși:

a) 1 pagină dactilografiată pentru referate, cronici, dări de seamă;

b) 2 pagini dactilografiate pentru recenzii, tehnici, inovații și istoria medicinei;

c) 4 pagini dactilografiate pentru fapte și observații clinice, probleme de organizare, rapoarte asupra unor schimburi de experiență;

d) 6 pagini dactilografiate, pentru lucrări cu caracter experimental, articole originale;

e) 10 pagini dactilografiate pentru referate generale.

În numărul de pagini prevăzut se include și bibliografia.

5. Articolele originale vor fi însoțite de un rezumat cu un text de maximum 10 rînduri, pe o pagină separată, avînd în titlu numele autorilor (fără titluri personale) și titlul lucrării. Rezumatele vor cuprinde obiectul lucrării, rezultatele obținute și concluziile.

6. Materialul iconografic, în două exemplare (în plicuri separate), va fi însoțit de un borderou cuprinzînd legenda imaginilor. Acest material va fi redus la un număr strict necesar pentru ilustrarea datelor cuprinse în articol. În textul articolului se va indica locul unde urmează a fi plasată fiecare imagine. Fotografiile vor purta pe verso numele revistei, numele primului autor și titlul lucrării. Înregistrările grafice, diagramele, schemele se recomandă a fi făcute cu tuș negru pe hîrtie de calc. Materialele vor cuprinde numai numărul strict necesar de tabele.

7. Bibliografia citată în text va cuprinde, pentru cărți, tratate și manuale:

— numele autorilor cu inițialele prenumelor;

— titlul cărții în limba originală (fără prescurtări), editura, localitatea și anul publicării;

ex.: CIUREZU T., TIMOFTE GEORGETA — Medicamente psihotrope, Ed. medicală, București, 1973;

iar pentru articole:

— numele autorilor cu inițialele prenumelor;

— titlul revistei în prescurtarea internațională, anul apariției, nr. volumului, numerele primei și ultimei pagini, separate printr-o liniuță.

Se recomandă ca citatele bibliografice, în afara monografiilor și tratatelor clasice, să se refere la articole apărute în ultimii 5—10 ani, iar pentru referatele generale și articolele de actualitate la ultimii 5 ani.

8. Nu se acceptă lucrări care au mai fost tipărite sau trimise spre publicare altor reviste.

9. Articolele neacceptate pentru publicare nu se restituie autorilor.

10. Redacția va răspunde în timp util autorilor despre acceptarea, neacceptarea sau necesitatea modificării articolului.

11. Autorii poartă întreaga răspundere pentru textele citate și desenele reproduse.

COLEGIUL DE REDACȚIE

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 8. Sectorul VII — Telefon 13.89.73

VOLUMUL XXIII APRILIE 2 IUNIE 1975

Studiul cromatografic în strat subțire a clordiazepoxidului, diazepamului și nitrazepamului, folosind complecși anionici ai Cr (III)

P. Marcu, I. Grecu

Catedra de chimie anorganică, Facultatea de farmacie I.M.F. Cluj-Napoca

REZUMAT

Prin aplicarea tehnicii cromatografice în strat subțire, metoda ascendentă, utilizînd noi sisteme de developare, s-au determinat Rf și limitele de sensibilitate a diazepamului și nitrazepamului și a produșilor lor de hidroliză (2-metil-amino-5-clorbenzefenona și 2-amino-5-nitrobenzofenona), comparativ cu clordiazepoxidul și cu produsul său de hidroliză (2-amino-5-clorobenzofenona).

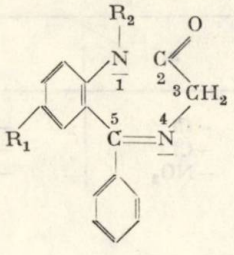
Identificarea spoturilor s-a făcut cu noi reactivi de identificare : hexaizotiocianatocromiatul (III) de potasiu și sarea Reinecke (alături de fluoresceină și eosină), comparativ cu tetraiodobismutatul (III) de potasiu (reactiv Dragendorff), citat de literatura de specialitate pentru clordiazepoxid.

Pentru identificarea produșilor lor de hidroliză, s-au folosit, în cazul sistemelor noastre de developare, reactivi citați în literatură.

Au fost efectuate unele încercări de separare a benzodiazepinelor studiate și a produșilor lor de hidroliză, din amestecuri, obținînd cele mai bune rezultate cu ajutorul sistemului cloroform/etalon absolut (58 : 2).

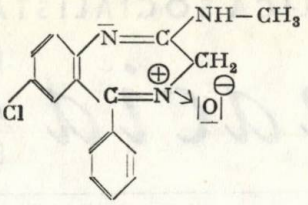
Larga utilitate în terapeutică a derivaților de 5-fenil-benzo-/f/-1,4-diazepină, explică interesul crescînd acordat acestei clase de medicamente, reflectat în numărul mare a cercetărilor efectuate pe plan național și mondial, atît în ceea ce privește acțiunea lor tranchilizantă (1, 2, 3) cît și a instituirii unor noi metode de determinare a lor, pe cale gravimetrică (4), volumetrică (5, 6), cromatografică (7, 8, 9, 10), polarografică (11), spectrofotometrică (4, 12, 13) etc.

Prezentăm structura generală a benzodiazepinelor studiate :



	R_1	R_2
Diazepam	—Cl	—CH_3
Nitrazepam	—NO_2	—H

Formula clordiazepoxidului (Napoton[1]) este :



Proprietăţile chimice ale acestor substanţe sînt determinate pe de o parte de prezenţa heterociclului diazepinic, care conferă moleculei organice caracterul bazic, iar pe de altă parte, de grupările funcţionale grefate pe acest nucleu.

Astfel, benzodiazepinele prezintă un caracter bazic accentuat (14), datorită atomului de azot din poziţia 1 şi mai ales din poziţia 4.

În cazul clordiazepoxidului, la caracterul bazic al moleculei contribuie şi gruparea metilaminică (15) a carbonului din poziţia 2.

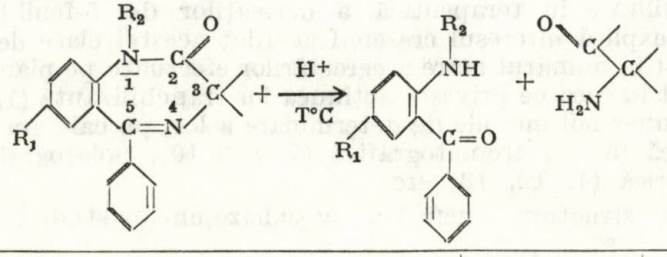
Din această cauză, aceste baze organice medicamentoase formează cu complecşii anionici ai unor metale reprezentative sau tranziţionale cu d^3-d^{10}, cît şi cu heteropoliacizii, acidul picric, picrolonic etc., compuşi greu solubili în apă, ce se pot prelucra gravimetric sau spectrofotometric.

Continuînd cercetările noastre privitoare la studiul fizico-chimic al aducţilor formaţi prin interacţiunea unor complecşi anionici ai Cr (III) asupra unor derivaţi medicamentoşi de 5-fenilbenzo-/f/-1,4-diazepină, în prezenta lucrare comunicăm rezultatele pe care le-am obţinut cu privire la studiul cromatografic în strat subţire al clordiazepoxidului, diazepamului şi nitrazepamului, precum şi al produşilor lor de hidroliză, întrebuinţînd în acest scop ca reactivi de identificare hexaizotiocianatocromiatul (III) de potasiu şi sarea Reinecke, comparativ cu alţi reactivi de identificare pentru aceste benzodiazepine, citaţi de literatura de specialitate.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Prepararea produşilor de hidroliză

Prin hidroliză acidă, benzodiazepinele îşi scindează ciclul heptagonal conform reacţiei generale :



Nr. crt.	Denumirea produsului	R_1	R_2
1	2-amino-5-clorbenzofenona	—Cl	—H
2	2-metilamino-5-clorbenzofenona	—Cl	—CH_3
3	2-amino-5-nitrobenzofenona	—NO_2	—H

[1] Denumirea românească a clordiazepoxidului.

Tabelul I

Rezultatele obținute la cromatografierea benzodiazepinelor, întrebuințînd sistemul de migrare cloroform/etanol absolut (58 : 2)

Nr. crt.	Substanța	Sistemul de migrare	Rf.	Reactivii de identificare	Culoarea spotului	Sensibilitatea (μg)
1	Clordiazepoxid	Cloroform/etanol absolut (58 : 2)	0,34	K $[BiJ_4]$	roșu-brun	0,14
				Sare Reinecke	roz mat în	0,71
				+	U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	0,71
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
2	Diazepam	„	0,62	K $[BiJ_4]$	roșu-brun	0,39
				Sare Reinecke	roz, mat	0,79
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	0,79
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
3	Nitrazepam	„	0,53	K $([BiJ_4]$	roșu-brun	0,28
				Sare Reinecke	roz, mat	0,12
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	0,12
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
4	2-Amino-5-clorbenzofenona	„	0,71	$NaNO_2$ + β-naftol	roșu-violet	0,12
5	2-Metilamino-5-clorbenzofenona	„	0,84	Soluție alcoolică de HNO_3	galben în U.V.	0,24
6	2-Amino-5-nitrobenzofenona	„	0,61	$NaNO_2$+β-naftol	brun-roșcat	0,12

Tabelul II

Rezultatele obținute la cromatografierea benzodiazepinelor întrebuințînd sistemul de migrare benzen/etanol absolut (50 : 10)

Nr. crt.	Substanța	Sistemul de migrare	Rf.	Reactivii de identificare	Culoarea spotului	Sensibilitatea (μg)
1	Clordiazepoxid	Benzen/etanol absolut (50 : 10)	0,55	K $[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,14
				Sare Reinecke	roz, mat	0,71
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	0,71
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
2	Diazepam	„	0,65	K $([BiJ_4]$	brun-roșcat	0,39
				Sare Reinecke	roz, mat	0,79
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	0,79
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
3	Nitrazepam	„	0,58	K $([BiJ_4]$	brun-roșcat	1,72
				Sare Reinecke	roz, mat	1,12
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$	roz, mat	1,12
				+	în U.V.	
				Fluoresceină		
4	2-Amino-5-clorbenzofenona	„	0,72	$NaNO_2$+β-naftol	roz-violaceu	0,24
5	2-Metilamino-5-clorbenzofenona	„	0,80	Soluție alcoolică de HNO_3	galben în U.V.	0,24
6	2-Amino-5-nitrobenzofenona	„	0,67	$NaNO_2$+β-naftol	brun-roșcat	0,12

Tabelul III

Rezultatele obținute la cromatografierea benzodiazepinelor, întrebuințînd sistemul de migrare benzen/dioxan/etanol absolut (30 : 10 : 5)

Nr. crt.	Substanța	Sistemul de migrare	Rf.	Reactivii de identificare	Culoarea spotului	Sensibilitatea (μg)
1	Clordiazepoxid	Benzen/dioxan/etanol absolut (30 : 10 : 5)	0,57	$K\ [BiJ_4]$	brun-roșcat	0,14
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,71
				$K_3\ [Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,71
2	Diazepam	„	0,74	$K[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,39
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,79
				$K_3\ [Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,79
3	Nitrazepam	„	0,70	$K[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,28
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	1,14
				$K_3\ [Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	1,14
4	2-Amino-5-clorbenzofenona	„	0,82	$NaNO_2$+β-naftol	roșu violaceu	0,12
5	2-Metilamino-5-clorbenzofenona	„	0,84	Soluție alcoolică de HNO_3	galben în U.V.	0,24
6	2-Amino-5-nitro benzofenona	„	0,78	$NaNO_2$+β-naftol	brun-roșcat	0,12

2-Amino-5-clorbenzofenona și *2-metilamino-5-clorbenzofenona* se obțin prin încălzirea pe baie marină la fierbere, timp de 30 de minute, a 100 mg clordiazepoxid, respectiv Diazepam, cu 100 ml acid clorhidric 4N. După răcirea soluțiilor, benzofenonele formate în urma hidrolizei se extrag cu 100 ml eter.

Faza organică separată, se spală cu 100 ml apă distilată, se usucă pe sulfat de sodiu anhidru și se evaporă sub vid.

Produșii obținuți (2-amino-5-clorbenzofenona și 2-metil-amino-5-clorbenzofenona) sînt recristalizați din alcool metilic (16).

2-Amino-5-clorbenzofenona se prezintă sub formă de ace fine, scurte, colorate în galben, insolubile în apă, solubile în majoritatea solvenților organici (p.t. = 98°C).

2-Metilamino-5-clorbenzofenona se prezintă sub forma unor prisme colorate în galben, insolubile în apă, solubile în majoritatea solvenți lor organici (p.t. = 95°C).

Produsul de hidroliză a nitrazepamului, *2-amino-5-nitrobenzofenona*, se prepară în aceleași condiții ca cele descrise anterior.

În timpul răcirii soluției clorhidrice, 2-amino-5-nitrobenzofenona precipită și se separă prin centrifugare. Se spală cu apă distilată și se usucă într-un curent de gaz metan la temperatura ambiantă.

Recristalizată din acetat de etil, 2-amino-5-nitrobenzofenona se prezintă sub formă de prisme slab-gălbuie, insolubile în apă, solubile în solvenți organici (p.t. = 161°C).

Tabelul IV

Rezultatele obținute la cromatografierea benzodiazepinelor, întrebuințînd sistemul de migrare benzen/etanol absolut/dietilamină (50 : 10 : 1)

Nr. crt.	Substanța	Sistemul de migrare	Rf.	Reactivii de identificare	Culoarea spotului	Sensibilitatea (μg)
1	Clordiazepoxid	Benzen/etanol absolut/dietilamină (50 : 10 : 1)	0,43	K $[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,14
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,71
				$K_3[Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,71
2	Diazepam	„	0,63	K $[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,39
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	0,79
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	brun-roșcat mat în U.V.	0,79
3	Nitrazepam	„	0,51	K $[BiJ_4]$	brun-roșcat	0,28
				Sare Reinecke + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	1,14
				K_3 $[Cr/NCS/_6]$ + Fluoresceină	roz, mat în U.V.	1,14
4	2-Amino-5-clorbenzofenona	„	0,85	$NaNO_2$ + β-naftol	roz-violaceu	0,12
5	2-Metilamino-5-clorbenzofenona	„	0,80	Soluție alcoolică de HNO_3	galben în U.V.	0,24
6	2-Amino-5-nitrobenzofenona	„	0,70	$NaNO_2$ + β-naftol	roz-violaceu	0,12

Comportarea cromatografică în strat subțire

În vederea separării cromatografice a clordiazepoxidului, diazepamului și nitrazepamului, ca și a produșilor lor de hidroliză, s-a utilizat tehnica cromatografiei ascendente în strat subțire.

În acest scop, am folosit plăci cu silicagel G, în grosime de 0,3 mm, activate timp de o oră la 105°C.

Probele au fost aplicate cu ajutorul unei microseringi Hamilton, iar saturarea plăcilor în mediu închis s-a făcut timp de 24 de ore, temperatura de lucru fiind de 22° ± 1°C.

Benzodiazepinele studiate ne-au fost puse la dispoziție de fabrica de medicamente „Terapia" din Cluj-Napoca, iar produșii lor de hidroliză i-am preparat după metodele descrise anterior.

S-au întrebuințat următoarele sisteme de developare :

1) cloroform/etanol (58 : 2) ;
2) benzen/etanol absolut (50 : 10) ;
3) benzen/dioxan/etanol absolut (30 : 10 : 5) ;
4) benzen/etanol absolut/dietilamină (50 : 10 : 1).

De menționat că ultimele trei sisteme n-au mai fost citate în literatura de specialitate pentru separarea cromatografică a substanțelor organice medicamentoase studiate în prezenta lucrare.

Identificarea spoturilor s-a făcut cu ajutorul unor soluții apoase, proaspăt preparate, de hexaizotiocianatocromiat (III) de potasiu 1% (sau

sare Reinecke), comparativ cu o soluție de tetraiodobismutat (III) de potasiu (1 g $BiCl_3$ și 21 g KJ, dizolvate în 50 ml H_2O și aduse la pH=1 cu acid clorhidric diluat), reactiv citat de literatură pentru identificarea clordiazepoxidului.

În acest scop, după separarea cromatografică a benzodiazepinelor, plăcile se usucă și se pulverizează cu o soluție de fluoresceină sau eosină (0,1% în alcool), iar apoi cu cei doi reactivi amintiți.

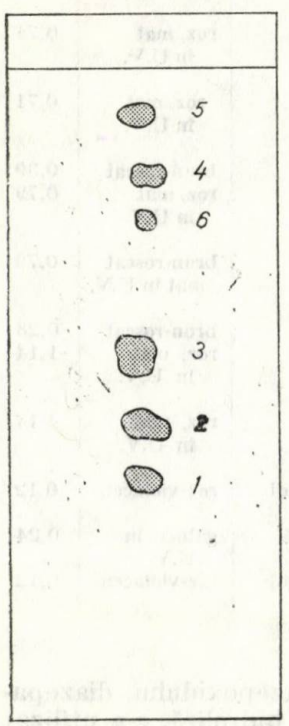


Fig. 1

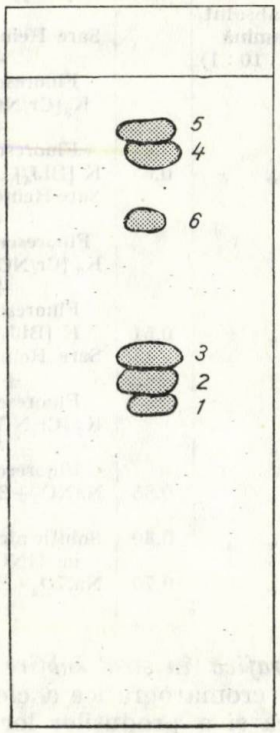


Fig. 2

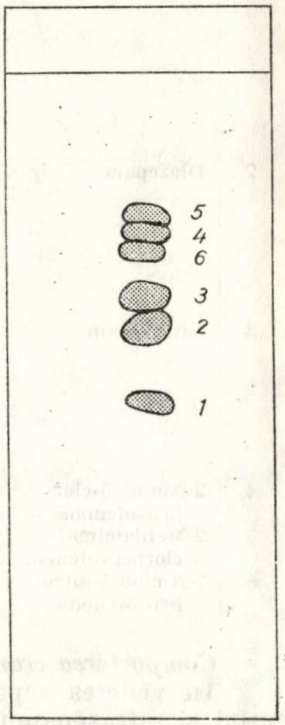


Fig. 3

Fig. 1. — Sistem: Cloroform/etanol absolut (58 : 2):
1. Clordiazepoxid; 2. Nitrazepam; 3. Diazepam; 4. 2-Amino-5-clorbenzofenonă; 5. 2-Metilamino-5-clorbenzofenonă; 6. 2-Amino-5-nitrobenzofenonă

Fig. 2. — Sistem: Benzen/etanol absolut (50 : 10):
1. Clordiazepoxid; 2. Nitrazepam; 3. Diazepam; 4. 2-Amino-5-clorbenzofenonă; 5. 2-Metilamino-5-clorbenzofenonă; 6. 2-Amino-5-nitrobenzofenonă

Fig. 3. — Sistem: Benzen (dioxan) etanol absolut (30 : 15 : 5):
1. Clordiazepoxid; 2. Nitrazepam; 3. Diazepam; 4. 2-Amino-5-clorbenzofenonă; 5. 2-Metilamino-5-clorbenzofenonă; 6. 2-Amino-5-nitrobenzofenonă.

Privite în lumină ultravioletă, spoturile apar mate, în contrast cu restul plăcii, care prezintă fluorescență.

Produșii de hidroliză ai celor trei benzodiazepine studiate nu se pot identifica cu acești reactivi. Pentru identificarea lor după separare se folosesc reactivii citați de literatura de specialitate

În acest scop, plăcile sînt pulverizate mai întîi cu o soluție de azotit de sodiu 1% în acid clorhidric 2N, iar apoi cu o soluție de β-naftol 1% în hidroxid de sodiu 2N.

Cîteva din rezultatele obținute la cromatografiere sînt trecute în tabelele I, II, III și IV.

Ţinînd seama de datele din tabele, am încercat separarea cromatografică a clordiazepoxidului, diazepamului şi nitrazepamului, precum şi a produşilor lor de hidroliză, din diferite amestecuri.

Astfel, am reuşit separarea şi identificarea din amestecuri a 0,21 μg clordiazepoxid alături de 2,30 μg diazepam, 1,72 μg nitrazepam, 0,014 μg 2-amino-5-clorbenzofenonă, 0,90 μg, 2-metilamino-5-clorbenzofenonă şi 1,45 μg 2-amino-5-nitrobenzofenonă.

Din figurile 1, 2 şi 3, se observă că cele mai nete separări se realizează cu ajutorul sistemului cloroform/etanol absolut (58 : 2).

Toate separările şi identificările efectuate s-au făcut comparativ cu etaloane de substanţă pură.

CONCLUZII

În prezenta lucrare se studiază din punct de vedere cromatografic un număr de trei benzodiazepine, precum şi produşii lor de hidroliză, întrebuinţîndu-se tehnica cromatografiei în strat subţire (CSS).

În acest scop sînt utilizate noi sisteme de developare, iar ca reactivi de identificare sînt folosiţi unii complecşi anionici ai Cr (III), comparativ cu alţi reactivi citaţi de literatură.

În urma rezultatelor obţinute s-au făcut unele încercări de separare şi identificare a benzodiazepinelor studiate, precum şi a produşilor lor de hidroliză din amestecuri.

BIBLIOGRAFIE

1. WYSS S., MÄDER A. — *Schweiz. med. Wschr.*, 1965, *95*, 338.
2. RANDALL L. O. — *J. Pharmacol.*, 1960, *129*, 2, 163.
3. ARIZAN S. — Teză de doctorat I.M.F. Bucureşti, 1970.
4. GRECU I., MARCU P. — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *6*, 339.
5. GRECU I., BARBU S. — *Ann. pharm. franç.*, 1968, *26*, 5, 405.
6. GRECU I., MARCU P. — *Farmacia (Buc.)*, (sub tipar).
7. GUELEN P.J.M., van der KLEYN E. — *Scand.*, 1973, *2*, 4.
8. POPA I., STAN T., ARMĂŞESCU L., ŞTEFĂNESCU E. — *Farmacia (Buc.)*, 1972, *9*, 517.
9. VAN DER KLEYN E., BEELEN G., FREDERICK M. — *Clin. chim. Acta*, 1971, *34*, 345.
10. FORSTER L., FRINGS C. — *Clin. Chem.*, 1970, *16*, 177.
11. ÖELSCHLAGER H., VOLKE I., KUREK E. — *Arch. Pharm.*, 1964, *297*, 11, 7, 431.
12. LOGNER H. I. — *Z. Anal. Chem.*, 1964, *28*, 202.
13. BEYER K. H., SADEÈ W. — *Arch. Pharm.*, 1967, *300*, 667.
14. PRIBILLA S. — *Arzneimittel Forsch.*, 1964, *14*, 723.
15. KOECHLIN B. A., D'ARCONTE L. — *Analyt. Biochemistry*, 1963, *5*, 195.
16. LAFARQUE P., PONT P., MEUNIER J. — *Ann. pharm. franç.*, 1970, *28*, 5, 343.

Articol intrat în redacţie la 3.XII.1973

Indicele de clasificare: 615.789: 545.844.

SUMMARY

P. Marcu, I. Grecu — THIN LAYER CHROMATOGRAPHIC STUDY OF CHLORDIAZEPOXIDE, DIAZEPAM AND NITRAZEPAM USING Cr ANIONIC COMPLEXES (III)

Rf and the limits of sensitivity of Diazepam, Nitrazepam and their hydrolysis products (2-methyl-amino-5-chlorbenzophenon and 2-amino-nitrobenzophenon) were determined comparatively with those of Chlordiazepoxide and its hydrolysis product (2-amino-5-chlorbenzophenon), applying the ascending thin layer chromatography procedure and using new developing systems.

The spots were identified with new identification reagents : potassium hexaisothiocyanate chromate (III) and Reinecke salt (next to fluoresceine and eosin), comparatively with potassium tetraiodobismuth (III) (Dragendorff reagent), cited in the literature for Chlordiazepoxide.

The conventional reagents were used for identification of the hydrolysis products, with the developing systems of the authors.

Tentatives were made to separate the benzodiazepins studied and their hydrolysis products from mixtures, the best results being obtained with the chloroform/absolute ethanol system (58 : 2).

РЕЗЮМЕ

П. Марку, И. Греку — ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ТОНКОСЛОЙНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХЛОРДИАЗЕПОКСИДА, ДИАЗЕПАМА И НИТРАЗЕПАМА С ПРИМЕНЕНИЕМ АНИОНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ХРОМА (СООБЩЕНИЕ III)

Применяя тонкослойные хроматографические восходящие методы исследования с использованием новых систем проявления, авторы определяли Rf и пределы чувствительности диазепама и нитразепама, а также и производных их гидролиза (2-метил-амино-5-хлорбензофенон и 2-амино-5-нитробензофенон) по сравнению с хлордиазепоксидом и производным его гидролиза (2-амино-5-хлоробензофенон).

Идентификация ,,спот''-ов производилась с применением новых идентифицируемых реактивов гексаизотиоцианатохромиат (III) калия и соли Рейнеке (наряду с флюоресцеином и эозином), по сравнению с тетрайодобисмутатом (III) каля (реактив Драгендорфа) упоминаемым в литературе по специальности в отношении хлордиазепоксида.

Для идентификации производных их гидролиза авторы, в рамках обычных систем проявления, применяли реактивы, упоминаемые в литературе.

Были предприняты опыты для отделения исследуемых бензодиазепинов и продуктов из гидролиза в смесях: самые лучшие результаты были получены при помощи системы: хлороформ/абсолютный этанол (58:2).

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Studiul omogenității mucilagului din frunzele de Hibiscus trionum (Malvaceae)

J. Máthé, G. Rácz

Facultatea de farmacie, I.M.F. Tîrgu Mureș

REZUMAT

Mucilagul din frunzele de Hibiscus trionum *nu este o substanță unitară. Prin metoda fracționării cu săruri cuaternare de amoniu și pe DEAE-celuloză se obțin două fracțiuni: una acidă și una neutră.*

Fracțiunea principală este formată din polizaharide acide. Nici fracțiunea acidă nu este o substanță unitară. Metoda filtrării prin gel de Sephadex G-100 și G-200 permite separarea a trei fracțiuni cu mase moleculare medii: $M_1 = 9\,500$; $M_2 = 54\,500$ și $M_3 = 195\,000$.

Planta *Hibiscus trionum* (familia Malvaceae) este larg răspîndită în flora spontană a țării noastre. Părțile aeriene ale plantei sînt întrebuințate în medicina populară în diferite scopuri, datorită conținutului în mucilagii și a derivaților flavonici (11). Frunzele plantei conțin mucilagii în proporție de aproximativ 8,50%. Din punct de vedere farmacognostic, planta a fost studiată de către G. Rácz și E. Rácz Kotilla (12). Părțile aeriene au fost denumite *Herba Trioni* și fac parte din compoziția produsului „Ceai diuretic" nr. 3. În alte țări drogul nu este întrebuințat.

Pornind de la importanța farmaceutică a drogului *Herba Trioni*, ne-am propus un studiu asupra omogenității substanțelor mucilaginoase din frunzele de *Hibiscus trionum*.

La cercetarea mucilagiilor, una din problemele cele mai importante este omogenitatea lor. În multe cazuri mucilagiile care par omogene sînt în realitate formate din mai multe polizaharide cu mase moleculare și structuri diferite. În chimia polizaharidelor nu există o metodă standard pentru determinarea omogenității. Din acest motiv sînt întrebuințate cele mai variate metode: metoda fracționării cu săruri cuaternare de amoniu (5, 6, 4) și cu săruri ale metalelor grele (4, 6), pe gel de Sephadex (8, 9, 13, 2) și DEAE celuloză (5), precum și prin electroforeză (5, 6, 13, 1, 10).

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Frunzele de *Hibiscus trionum* au fost recoltate în luna septembrie a anilor 1972 și 1973.

1. *Obținerea mucilagului*

Drogul recoltat, uscat și tratat cu metanol în vederea îndepărtării pigmenților, a fost supus macerării cu apă în proporție de 5 g drog/100 ml apă, în condițiile descrise anterior (7).

2. *Fracționarea mucilagului*

a) Fracționarea mucilagului cu săruri cuaternare de amoniu: 100 ml soluție de mucilag 1% s-a tratat cu bromocet 10% (Cetylpiridinium bromatum) pînă la precipitarea completă a mucilagului. Precipitatul s-a dizolvat în 100 ml soluție de NaCl 10%. Soluția vîscoasă obținută s-a turnat în 400 ml alcool 96°. Mucilagul a fost separat prin centrifugare. După spălare cu alcool, alcool-eter și eter, produsul a servit la studiul omogenității.

Supernatantul rămas după precipitare cu bromocet s-a trecut prin coloane de schimbători de ioni cationit și anionit, apoi s-a concentrat la 1/4 din volumul inițial și s-a precipitat mucilagul după o tehnică descrisă (7).

b). Fracționarea mucilagului pe DEAE celuloză: pe coloane de DEAE-celuloză pregătită după Franz (5), de mărime de 14,5 × 3 cm, s-au aplicat 100 ml soluție de mucilag 0,1%. Eluția s-a făcut cu 200 ml apă distilată, cu 200 ml tampon acetat de sodiu 0,1 N și cu 200 ml hidroxid de sodiu 0,1 N. Fracțiunile s-au trecut prin coloane de schimbători de ioni cationit și anionit și apoi polizaharidele s-au precipitat cu alcool 96°.

c. Determinarea compoziției fracțiunilor; s-a aplicat metoda cromatografiei pe hîrtie. Condiții de lucru: hîrtia Whatman nr. 1, tehnica ascendentă, solvent butanol-piridină-apă (3 : 2 : 1,5), identificare cu ftalat de anilină.

3. *Studiul omogenității fracțiunilor acide* prin metoda filtrării prin gel de Sephadex.

Sephadex-ul G-200 și G-100 (Pharmacia Co) se îmbibă în soluție de NaCl 0,05 M timp de 48 de ore, apoi se pregătesc coloanele cromatografice. Coloanele întrebuințate de noi au următoarele caracteristici:

— Sephadex G-200, $V_t = 221$ ml; $V_0 = 69$ ml;
— Sephadex G-200, $V_t = 300$ ml; $V_0 = 109$ ml;
— Sephadex G-100 $V_t = 200$ ml; $V_0 = 55$ ml.

Volumul exterior (V_0) s-a determinat cu Blue Dextran. Pe coloanele pregătite s-au aplicat 2 ml soluție de mucilag 0,4% amestecată cu 2 ml NaCl 0,05 M. Eluția s-a făcut cu 0,05 M. S-au colectat cîte 5 ml, respectiv cîte 2 ml din eluat și s-au analizat prin metoda folosită de Dubois și colab. (3).

4. *Determinarea masei moleculare a fracțiunilor acide*

Masa moleculară a fracțiunilor s-a determinat prin metoda filtrării prin gel de Sephadex G-200 și G-100 (2, 8, 9, 13).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

O cercetare mai amănunțită a substanțelor mucilaginoase necesită determinarea numărului și al caracterului fracțiunilor respective. Separarea componenților acizi de cei neutri din mucilagii se realizează cu ușurință prin fracționarea cu săruri cuaternare de amoniu. Aceste săruri formează precipitate insolubile cu grupările acide ale polizaharidelor. În loc de cetavlon (cetylmethyl ammonium bromatum) noi am utilizat bromocetul 10% (Cetylpyrimidinium bromatum). Cu bromocet am separat mucilagul brut în două fracțiuni: acidă și neutră.

Prin metoda cromatografică se constată prezența în fracțiunea acidă a acidului galacturonic a glucidelor galactoză, ramnoză, arabinoză

și xiloză, ultimile două în proporție redusă. În fracțiunea neutră a mucilagului se constată prezența galactozei, arabinozei și a urmelor de ramnoză și xiloză. Rezultatele sînt trecute în tabelul II.

Prin fracționarea produsului brut pe coloană de DEAE-celuloză s-au obținut trei fracțiuni diferite. Dintre acestea, prima și a doua, eluate cu apă distilată și tampon acetat, formează partea neutră a mucilagului, iar fracțiunea a treia eluată de NaOH 0,1 N formează partea acidă a mucilagului. Fracțiunea acidă a mucilagului se găsește în raportul cel mai mare de cele două fracțiuni neutre.

Raportul mediu dintre fracțiuni, exprimat în procente, determinat gravimetric, este trecut în tabelul I.

Tabelul I

Fracționarea produsului brut pe DEAE-celuloză

Fracțiunea	Eluent	Substanță eluată în medie (%)
I.	Apă	8,86
II.	Tampon-acetat	28,92
III.	NaOH 0,1 N	54,19

Fracțiunile obținute prin cele două metode de fracționare au fost supuse analizei cromatografice în scopul determinării compoziției fracțiunilor. Cromatogramele obținute sînt reprezentate în figurile 1 și 2.

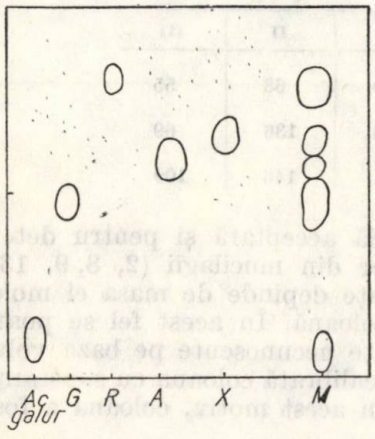


Fig. 1. — Cromatograma glucidelor din fracțiunea acidă: Ac. galur = acid galacturonic; G = galactoză; R = ramnoză; A = arabinoză; X = xiloză; M = mucilag.

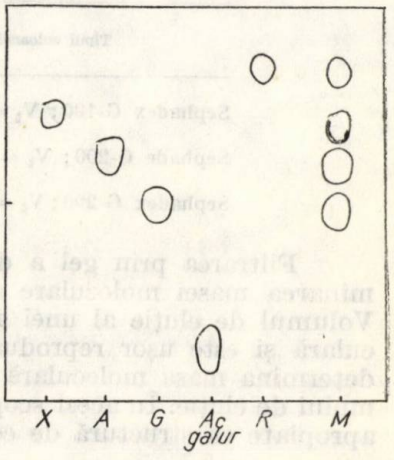


Fig. 2. — Cromatograma glucidelor din fracțiunea neutră (prescurtările corespund acelora din fig. 1).

Pe baza mărimii și a intensității spoturilor s-a evaluat raportul dintre cantitatea glucidelor din hidrolizatele fracțiunilor. Schematic sînt reprezentate în tabelul II.

Fracțiunea acidă fiind partea principală a mucilagului, s-a determinat numărul fracțiunilor și masa moleculară a acestora.

Tabelul II

Raportul dintre cantitatea glucidelor din hidrolizat

Fracționarea	Fracțiunea	Glucide				
		Acid galactu-ronic	Galactoză	Arabinoză	Ramnoză	Xiloză
DEAE-celuloză	I.	−	+	+	+	±
	II.	−	+++	+++	+	±
	III.	+++	+++	+	++++	±
Bromocet	I. Precipitat	+++	+++	+	+++	±
	II. Supernatant	−	++++	+++	+	±

Legenda: ++++ = foarte intens colorat; +++ = intens colorat; ++ = mediu colorat; + = slab colorat; ± = foarte slab colorat.

Studiind omogenitatea fracțiunii acide prin folosirea gelului de Sephadex G-100 și G-200 în trei coloane cu volume diferite, se constată prezența a trei fracțiuni distincte :

Volumul de eluție (V_e) al fracțiunilor determinate din diagramele de eluție și reproduse în trei experiențe consecutive se găsește în tabelul III.

Tabelul III

Volumul de eluție al fracțiunilor

Tipul coloanei	V_e (ml)		
	I	II	III
Sephadex G-100; V_t = 200	129	68	55
Sephade G-200; V_t = 221	176	136	69
Sephadex G-200; V_t = 300	251	146	109

Filtrarea prin gel a devenit o metodă acceptată și pentru determinarea masei moleculare a polizaharidelor din mucilagii (2, 8, 9, 13). Volumul de eluție al unei anumite substanțe depinde de masa ei moleculară și este ușor reprodusă pe aceeași coloană. În acest fel se poate determina masa moleculară a unei substanțe necunoscute pe baza volumului de eluție. În acest scop trebuie să fie calibrată coloana cu substanțe apropiate ca structură de cele studiate. Din acest motiv, coloana a fost

Tabelul IV

Masa moleculară medie a fracțiunilor acide

Felul coloanei	Masa moleculară medie		
	I	II	III
Sephadex G-100; V_t = 200	10 000	53 000	peste 100 000
Sephadex G-200; V_t = 221	8 900	56 000	190 000
Sephadex G-200; V_t = 300	9 700	54 000	200 000

calibrată cu dextrani cu mase moleculare cunoscute, obținute de la Pharmacia Co. Reprezentînd V_e în funcție de 10 $\overline{M}_n$ al substanțelor standard se obțin curbele etalon, care sînt reprezentate în figurile 3, 4 și 5.

Pe baza V_e al fracțiunilor se determină $\overline{M}_n$ prin extrapolarea volumului de eluție pe ordonata curbei etalon. Masa moleculară medie a fracțiunilor acide se găsește în tabelul IV.

Din tabelul IV se observă prezența a trei fracțiuni cu mase moleculare diferite. Între valorile obținute cu cele trei coloane de Sephadex cu volume diferite diferențele nu sînt mari.

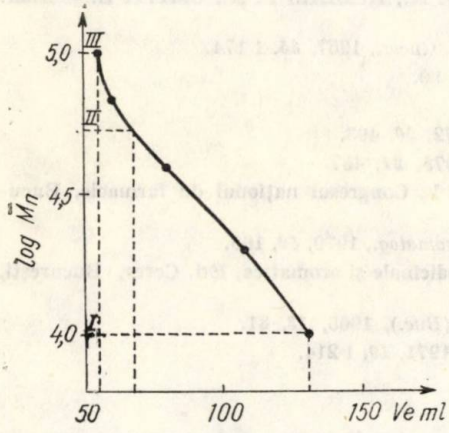


Fig. 3

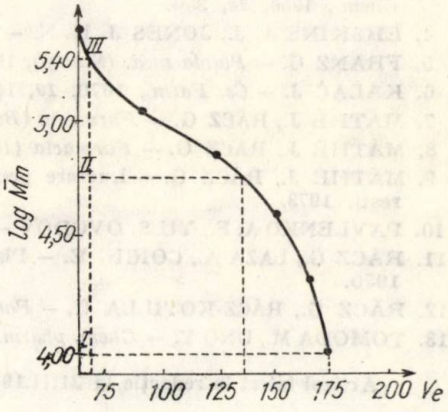
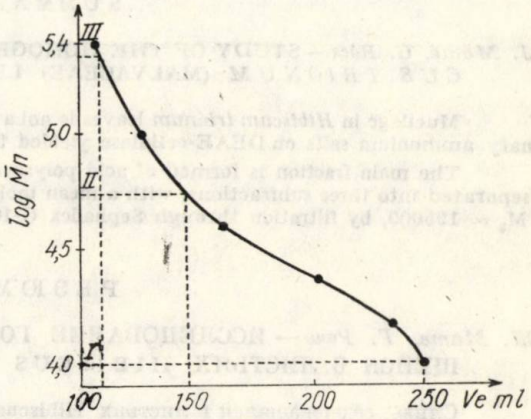


Fig. 4

Fig. 3.—Curba etalon (Sephadex G-100; V_t = 200 ml). Determinarea masei moleculare a fracțiunilor I, II, III.

Fig. 4.—Curba etalon (Sephadex G-200; V_t = 221 ml). Determinarea masei moleculare a fracțiunilor I, II, III,

Fig. 5.—Curba etalon (Sephadex G-200; V_t = 300 ml). Determinarea masei moleculare a fracțiunilor I, II, III.



CONCLUZII

Prin metoda fracționării cu bromocet (Cetylpyridinium bromatum, C.P.B.) și DEAE-celuloză, mucilagul brut se separă în două componente: una acidă, care pe lîngă glucide conține și acizi uronici, și una neutră, care conține numai glucide.

Fracțiunea principală este acidă și este formată din acid galacturonic, galactoză, ramnoză, arabinoză și urme de xiloză.

Utilizînd metoda filtrării prin gel de Sephadex G-100 și G-200 s-a constatat că nici fracțiunea acidă nu este omogenă, fiind formată din trei polizaharide acide macromoleculare.

BIBLIOGRAFIE

1. ANDERSON D. M. W., HENDRIE A., MILLAR J., R. A., MUNRO A. C. — *Analyst*, 1971, *96*, 870.
2. BOTA V., MÁTHÉ J., CRISTEA C. — Lucrare prezentată la Congresul național de farmacie, București, 1973.
3. DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P. A., SMITH E. — *Anal. Chem.*, 1956, *28*, 350.
4. ERSKINE A. J., JONES J. K. N. — *Can. J. Chem.*, 1957, *35*, 1 174.
5. FRANZ G. — *Planta med.* (*Stuttg.*), 1966, *14*, 90.
6. KALAČ J. — *Čs. Farm.*, 1970, *19*, 143.
7. MÁTHÉ J., RÁCZ G. — *Farmacia* (*Buc.*), 1972, *20*, 493.
8. MÁTHÉ J., RÁCZ G. — *Farmacia* (*Buc.*), 1973, *21*, 457.
9. MÁTHÉ J., RÁCZ G. — Lucrare prezentată la Congresul național de farmacie, București, 1973.
10. PAVLENKO A. F., YU S. OVODOV — *J. Chromatog.*, 1970, *52*, 165.
11. RÁCZ G., LAZA A., COICIU E. — Plante medicinale și aromatice, Ed. Ceres, București, 1970.
12. RÁCZ G., RÁCZ-KOTILLA E. — *Farmacia* (*Buc.*), 1965, *13*, 81.
13. TOMODA M., UNO T. — *Chem. pharm. Bull.*, 1971, *19*, 1 214.

Articol intrat în redacție la 21.II.1974

Indicele de clasificare: 615.32 Hibiscus trionum

SUMMARY

J. Máthé, G. Rács — STUDY OF THE HOMOGENICITY OF MUCILAGE IN *HIBISCUS TRIONUM* (MALVACEAE) LEAVES

Mucilage in *Hibiscum trionum* leaves is not a unitary substance. Separation with quaternary ammonium salts on DEAE-cellulose yielded two fractions: an acid and a neutral one.

The main fraction is formed of acid polysaccharides. In its turn this acid fraction was separated into three subfractions, with a mean molecular mass of $M_1 = 9500$, $M_2 = 54500$ and $M_3 = 195000$, by filtration through Sephadex G-100 and G-200 gel.

РЕЗЮМЕ

Ж. Мате, Г. Рачь — ИССЛЕДОВАНИЕ ГОМОГЕННОСТИ СЛИЗИ СОДЕРЖАЩЕЙСЯ В ЛИСТЬЯХ HIBISCUS TRIONUM (MALVACEAE)

Слизь, содержащаяся в листьях Hibiscus trionum не является однородным веществом. При помощи метода фракционирования с использованием четвертичных солей амония и ДЕАЕ-целлюлозы получаются 2 фракции: одна кислая, а другая нейтральная.

Главная фракция состоит из кислых полисахаридов. Кислая фракция также не является однородным веществом. При помощи метода фильтрования через гель Sephadex G-100 и G-200 авторы отделили 3 фракции обладающие средними молекулярными массами: $M_1 = 9600$, $M_2 = 54\,500$ и $M_3 = 195\,000$.

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Cercetări asupra acțiunilor biochimice ale medicamentelor

II. Metoda perfuziei de organe (inimăê în aprecierea efectelor medicamentelor antidiabetice orale (Daonil, Tolbutamidă)

D. Bedeleanu, Cornelia Bâcleşeanu, Zoe Anca, Magdalena Fărăgău

Disciplina de biochimie farmaceutică şi clinică, I.M.F. Cluj-Napoca

REZUMAT *Modelul perfuziei* in vitro *a inimii de şobolan, organ caracterizat prin absența gluconeogenezei şi prin utilizarea preferențială a acizilor graşi în scop energetic, a permis relevarea unor efecte diferențiate a două medicamente antidiabetice orale din aceeaşi clasă : Daonilul şi Tolbutamida.*

Tolbutamida creşte consumul glucozei cu producerea unei acumulări de lactat. La timp scurt Daonilul activează puternic glicoliza, efect ce pierde din semnificație la tratamentul de durată. În general, efectele Daonilului pe acest model sînt superioare Tolbutamidei.

Diferențele de acțiune semnalate pot servi ca premise pentru aplicarea unei terapii antidiabetice nuanțate în raport cu modificările parametrilor biochimici şi stadiul clinic.

Orientarea modernă a cercetărilor de farmacocinetică a permis elaborarea unui model bicompartimental (cu 8 parametri) de analiză a mecanismelor de control a metabolismului glucozei şi insulinemiei şi care semnalează o discriminare între subiecții normali, diabetici şi obezi şi confirmă cunoştințele anterioare asupra lezării acestor mecanisme de control în stările patologice studiate (1).

Asemenea cercetări nu numai că nu exclud, ci din contră, accentuează interesul aprofundării modificărilor biochimice la nivelul diferitelor compartimente : umoral, tisular, celular şi al particulelor subcelulare, singurele capabile să localizeze şi să explice mecanismele afectate în diferite stări patologice şi să ofere indicații pentru selectarea medicamentelor cu efecte optime, evitînd astfel efectele secundare şi adverse, în cadrul normelor de farmacovigilență.

În această concepție, lucrările noastre anterioare au semnalat la animalele cu ateromatoză experimentală modificări ale glicemiei (în condiții speciale), ale enzimelor corelate cu metabolismul glucidic şi ale funcțiilor mitocondriei care ne-au determinat să caracterizăm această condiție ce însoțeşte semnele majore ale ateromatozei ca o stare de prediabet (2—9).

Pe de altă parte, într-o altă serie de lucrări s-a urmărit pe modelul şobolanului aloxanizat acțiunea medicamentelor antidiabetice (10), semnalîndu-se scăderea proteinelor tisulare (ficat, rinichi, creier), care se normalizează sub efectul tolbutamidei ; meguanul activează glicoliza

și crește piruvatul și lactatul, inhibînd glicogenogeneza (11); medicația antidiabetică normalizează deficitul de CH_3—CO—SCoA prin stimularea decarboxilării oxidative a piruvatului și dirijarea acestuia spre ciclul citric sau sinteza de acizi grași (12); în alterarea șuntului pentozofosfatic, manifestat prin afectarea puternică a G-6-P-dehidrogenazei (enzimă cheie a acestei căi metabolice), sulfamidele hipoglicemiante restabilesc nivelul de acțiune al enzimei, acțiune ce se înscrie în cadrul efectelor metabolice insulino-dependente cu consecințe asupra biosintezei acizilor grași și a formării NADPH+H^+(13).

Pe baza constatării acestor modificări biochimice reflectate la nivel umoral (pe animalul întreg), pe omogenate sau pe particulele subcelulare, ne-am propus să urmărim în lucrarea de față efectul unor medicamente antidiabetice larg utilizate în practica medicală — Daonilul și Tolbutamida — pe modelul perfuziei inimii *in vitro* la animalele normale și diabetice.

S-a considerat utilitatea modelului pe baza unor caracteristici pe care le prezintă și anume : permite urmărirea unor indicatori biochimici în condițiile unei relative integrități a organului studiat, care continuă să funcționeze independent de influențele de control și reglare ale centrilor superiori și de cele hormonale. Modificările semnalate și specificul acestora ilustrează condiția animalului în momentul experimentării : animal normal sau diabetic și relevă efectul medicamentelor administrate anterior sacrificării și acțiunea acestora asupra organului respectiv (inimă) desprins de alte influențe. În continuare, organul perfuzat servește pentru urmărirea unor indicatori biochimici pe omogenate, deci la nivel celular, și al particulelor subcelulare.

S-a ales ca organ de studiu inima datorită unor particularități de metabolizare a glucidelor ca, de exemplu, caracterul specific al glicolizei, echipamentul enzimatic caracteristic, prezența izoenzimei LDH—H_4 (ce conferă inimii un profil enzimatic diferit de al altor mușchi și organe), utilizarea preferențială ca sursă energetică a acizilor grași și posibilitatea utilizării lactatului (14), promptitudinea răspunsului la insulină și, în plus, prin faptul că în condițiile de lucru inima continuă să funcționeze (să se contracte) în tot timpul perfuziei.

În literatura de specialitate acest model a dovedit că inimile animalelor hrănite extrag glucoza din perfuziile recirculante cu o rată superioară față de cele în inaniție și că oxidarea glucozei la CO_2 + H_2O nu este afectată de prezența acizilor grași (palmitat), în timp ce oxidarea acizilor grași era depresată în prezența glucozei și că la animalele în inaniție, atît oxidarea glucozei, cît și a palmitatului erau simultan scăzute, ceea ce relevă un grad de adaptare a metabolismului cardiac la aportul energetic al organismului (15), or, în diabet energogeneza este obișnuit afectată.

MATERIAL ȘI METODĂ

A. Experiențele s-au efectuat pe șobolani albi, masculi, tineri în greutate de 120—150 g, ținuți în condiții standard de laborator, grupați în :

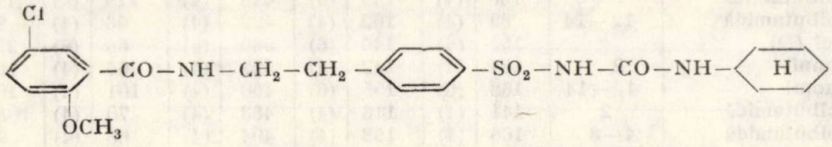
a) animale normale (martori) și tratate cu antidiabetice orale ;

b) animalele cu diabet aloxanic, model realizat cu aloxan BDH Reagent (gr. mol. = 160,09 ; p.t. = 250°), în soluție tampon fosfat-citrat

pH 7,2, administrat intraperitoneal în două reprize de cîte 10 și 15 mg/ml/100 g greutate corporală, după tehnicile descrise în lucrările noastre anterioare (10—13) și verificat prin criteriile biochimice majore (glicemie, glicozurie, poliurie, cetonurie).

B. Pe aceste modele s-a urmărit efectul următoarelor medicamente :

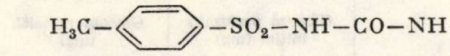
a. *Glibenclamid* (Hb 419 ; preparatul Daonil-Hoechst) N-4/2-(5-Cl--2-metoxibenzamid)-etil-/-fenil-sulfonil-N-ciclohexil administrat în doze



de 150 mg/kg greutate corporală (calculat pe bază de echivalență a greutății moleculare față de tolbutamidă).

b. Tolbutamida (Diabetamid), produs indigen

N-p-toluensulfonil-N'-butil-uree



administrat în doze de 125 mg/kg greutate corporală.

În ambele cazuri administrarea s-a făcut prin gavaj stomacal (sondă cu seringă), în diferite etape de timp (după starea animalelor), la intervale de 24 sau 48 de ore.

C. Sîngele recoltat înainte de sacrificarea animalelor din sinusul cavernos sau din aortă (după sacrificare) servește la determinarea *glicemiei* după metoda Somogy-Nelson (16).

D. *Lactatul* s-a determinat după metoda uzuală Barker (17).

E. *Modelul perfuziei inimii in vitro*

Șobolanilor li se secționează aorta abdominală și cordul prelevat se spală cu soluție izotonică de KCl pentru îndepărtarea leucocitelor, care prin metabolismul lor intens pot fi surse de eroare.

Perfuzia se efectuează cu soluție van Slyke, la care se adaugă mediul glicolitic după Roberto-Careijo-Santalb în următoarele concentrații finale : ATP ImM ; NAD 0,5 mM ; nicotinamidă 40 mM și glucoză 5 mM ; pH-ul inițial al soluției este de 7,4.

Mediul de incubare este adus la 37° în aparatul de perfuzie și menținut la această temperatură printr-un sistem de termostatare Hoepler. Se menține o presiune constantă de 90 mmHg prin înălțimea reglabilă a coloanei. Oxigenarea (aerarea) lichidului de perfuzie este asigurată prin construcția aparatului.

Cordul izolat este menținut la temperatura constantă printr-un manșon de material plastic ; mediul de perfuzie (37°) se introduce în cord prin tubul de conectare legat la aortă. Se îndepărtează lichidul de perfuzie din primele 5 minute, după care se cronometrează timpul de recoltare a perfuzatului (în medie 15 minute), luîndu-se în considerare numai experiențele în care inima se contractă puternic în tot timpul perfuziei. Se măsoară volumul lichidului perfuzat și se aduce în vas cu gheață ; alicuotă din acesta servind determinării parametrilor biochimici (glucoză, acid lactic). Inima perfuzată este omogenizată (la rece)

Tabelul I

Greutatea animalelor, greutatea inimii şi glicemia

Lotul	Nr. doze	Greutatea (g)				Greutatea inimii (mg)		Glicemia			
		Iniţial		Sacrificare				Iniţial		Sacrificare	
		$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)
Normali (N)		139	(6)	137	(6)	447	(6)	78	(6)	106	(6
N + Daonil	3—5	168	(4)	187	(4)	403,5	(4)	65	(4)	83	(4)
N + Daonil	12—14	117	(4)	120	(4)	455	(4)	66	(4)	85	(4)
N + Tolbutamidă	3—5	160	(4)	149	(4)	428	(4)	119	(4)	142	(4)
N + Tolbutamidă	12—14	89	(4)	162	(4)	422	(4)	96	(4)	92	(4)
Diabetici (D)		155	(6)	146	(6)	560	(6)	66	(6)	230	(6)
D + Daonil	2	154	(4)	142	(4)	522	(4)	66	(4)	105	(4)
D + Daonil	12—14	168	(6)	155	(6)	460	(4)	101	(4)	100	(4)
D + Tolbutamidă	2	141	(4)	116	(4)	483	(4)	70	(4)	85	(4)
D + Tolbutamidă	4—8	166	(4)	153	(4)	404	(4)	68	(4)	93	(4)

$\bar{x}$ = media experienţelor; (n) = numărul de animale

Tabelul II

Glucoza în perfuzat; glucoza regăsită şi din ţesutul cardiac

Lotul	Nr. doze	Glucoza perfuzată iniţial (mg)		Glucoza regăsită (mg)		Glucoza din ţesutul cardiac (mg)	
		Vol. total (ml)		Vol. total (ml)		100 g inimă	
		$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)
Normali (N)		13	(6)	15,60	(6)	533	(6)
N + Daonil	3—5	19	(4)	21,72	(4)	72	(4)
N + Daonil	12—14	16	(4)	14,05	(4)	514	(4)
N + Tolbutamidă	3—5	14	(4)	12,10	(4)	253	(4)
N + Tolbutamidă	12—14	26	(4)	22,74	(4)	261	(4)
Diabetici (D)		17	(6)	18,61	(6)	92,7	(6)
D + Daonil	2	12,5	(4)	21,0	(4)	364	(4)
D + Daonil	12—14	15,5	(4)	9,0	(4)	240	(6)
D + Tolbutamidă	2	10,4	(4)	13,98	(4)	304,5	(4)
D + Tolbutamidă	4—8	13,1	(4)	11,77	(4)	290	(4)

$\bar{x}$ = media determinărilor; (n) = numărul de animale

Tabelul III

Lactatul în sînge, perfuzat şi ţesutul cardiac

Lotul	Nr. doze	Sînge		Perfuzat		Ţesut cardiac	
		µg/mg		mg/100 ml perf.		mg/100 g ţesut umed	
		$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)	$\bar{x}$	(n)
Normali (N)		376	(4)	10,59	(6)	106,3	(5)
N + Daonil	3—5	46	(4)	2,34	(4)	18,1	(4)
N + Daonil	12—14	821	(4)	36,58	(4)	396,6	(4)
N + Tolbutamidă	3—5	132	(4)	3,80	(4)	64,6	(4)
N + Tolbutamidă	12—14	742	(3)	43,61	(4)	159,6	(4)
Diabetici (D)		61	(6)	15,55	(6)	123,2	(6)
D + Daonil	2	274	(4)	6,91	(4)	72,0	(4)
D + Daonil	12—14	712	(4)	7,16	(4)	81,2	(4)
D + Tolbutamidă	2	170	(4)	7,36	(4)	29,8	(4)
D + Tolbutamidă	4—8	205	(4)	7,48	(4)	58,3	(4)

$\bar{x}$ = media determinărilor; (n) = număr de animale.

în soluție KCl izotonică (omogenat 10%) în aparatul Wary-blader-blender și acest omogenat este utilizat pentru determinarea acelorași parametri biochimici, după tehnicile descrise mai sus.

REZULTATE

Rezultatele obținute sînt prezentate în tabelele I, II, III și VI și în graficele sinoptice din figurile 1, 2 și 3, în raport cu lotul studiat:

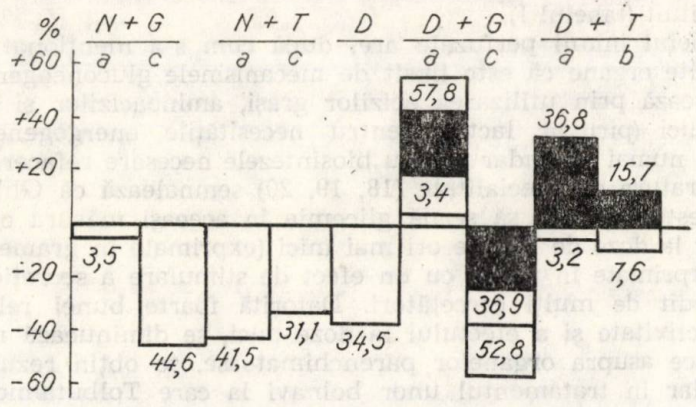


Fig. 1. — Consumul de glucoză (mg/min./g țesut umed).

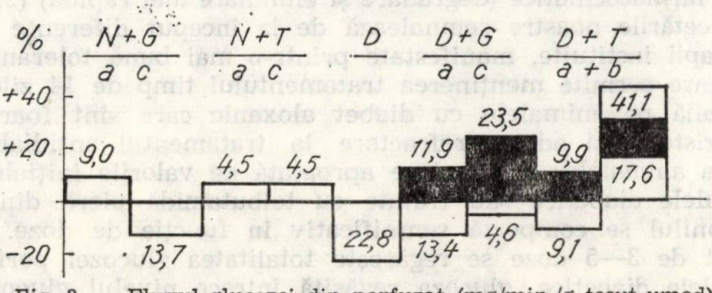


Fig. 2. — Fluxul glucozei din perfuzat (mg/min./g țesut umed).

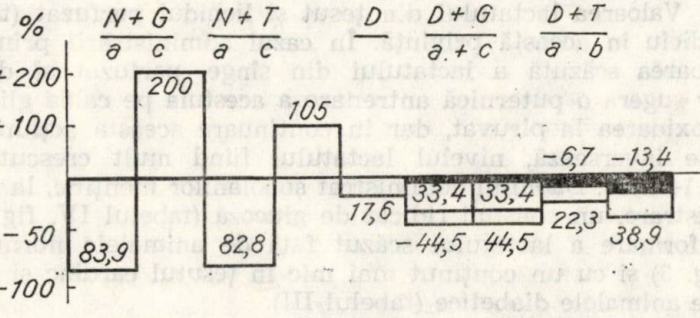


Fig. 3. — Viteza de formare a lactatului în perfuzat (mg/min./g țesut umed).

Fig. 1, 2, 3 — N — normali ; D — diabetici ; G — glibenclamidă (Daonil) ; T — tolbutamidă ; a — 2—6 doze ; b — 4—8 doze ; c — 8—12 doze.

□ — % față de normali

■ — % față de diabetici

martori şi animale normale tratate cu tolbutamidă sau daonil şi respectiv la animalele cu diabet aloxanic, tratate cu aceleaşi medicamente.

Glicemia animalelor înainte de instituirea tratamentului era în medie de 78 mg% la animalele normale, iar la animalele diabetice de 150—290 mg% (în medie 230 mg% la sacrificare) ceea ce inveterează instalarea diabetului aloxanic, verificată şi prin glicozurie, poliurie şi cetonurie. La animalele diabetice tratate cu Daonil şi Tolbutamidă valoarea glicemiei tinde spre normalizare, ceea ce denotă eficacitatea tratamentului instituit (tabelul I).

Modelul inimii perfuzate are, după cum s-a menţionat, avantajul faţă de alte organe că este lipsit de mecanismele gluconeogenetice şi se caracterizează prin utilizarea acizilor graşi, aminoacizilor şi metaboliţilor glucidici (piruvat, lactat) pentru necesităţile energogenetice (contracţie) şi numai secundar pentru biosintezele necesare refacerii sale (14).

Literatura de specialitate (18, 19, 20) semnalează că Glibenclamida (Daonil) este capabilă să scadă glicemia în aceeaşi măsură cu Tolbutamida, dar la doze de 240 de ori mai mici (exprimate în grame) şi de 440 de ori (exprimate în moli), cu un efect de stimulare a secreţiei de insulină dovedit de mulţi cercetători. Datorită foarte bunei relaţii dintre doză şi activitate şi a efectului la doze mici, se diminuează riscul efectelor toxice asupra organelor parenchimatoase, se obţin rezultate favorabile chiar în tratamentul unor bolnavi la care Tolbutamida în doze maximale a eşuat (21) şi, pe de altă parte, datorită dozelor mici, prezintă avantaje farmacocinetice (degradare şi eliminare mai rapidă) (22).

Cercetările noastre semnalează de la început diferenţe între cele două terapii instituite, manifestate printr-o mai bună toleranţă faţă de Daonil, care permite menţinerea tratamentului timp de 14 zile, condiţie rar posibilă pe animalele cu diabet aloxanic care sînt foarte slăbite, puţin rezistente şi adesea refractare la tratamentul antidiabetic oral. Greutatea animalelor se menţine apropiată de valorile iniţiale, în timp ce animalele diabetice sau tratate cu tolbutamidă pierd din greutate.

Daonilul se comportă semnificativ în funcţie de doze. După un tratament de 3—5 doze se regăseşte totalitatea glucozei perfuzate, iar la animalele diabetice, glucoza regăsită întrece nivelul glucozei perfuzate, observaţie se ridică problema solicitărilor la care răspunde glucoza perfuzată. Valoarea lactatului din ţesut şi lichidul perfuzat (tabelul III) dă un indiciu în această privinţă. În cazul administrării primelor 3—5 doze, valoarea scăzută a lactatului din sînge, perfuzat şi din ţesutul cardiac ar sugera o puternică antrenare a acestuia pe calea glicolizei aerobe, cu oxidarea la piruvat, dar în continuare această acţiune scade şi valorile se inversează, nivelul lactatului fiind mult crescut în sînge după 12—14 doze. Daonilul administrat şobolanilor menţine, la timp scurt de administrare, un consum ridicat de glucoză (tabelul IV, fig. 1), la un nivel de formare a lactatului scăzut faţă de animalele normale (tabelul VI, fig. 3) şi cu un conţinut mai mic în ţesutul cardiac şi cel perfuzat faţă de animalele diabetice (tabelul III).

Tolbutamida stimulează la şobolanii normali metabolizarea glucozei pe cale oxidativă, fără a se remarca însă o diferenţă marcată în funcţie de numărul dozelor. La animalele diabetice se observă la 4—8 doze o creştere a lactacidemiei care nu atinge valorile normale şi o scădere în ţesutul cardiac şi perfuzat sub valorile animalelor normale sau diabetice.

Consumul de glucoză, scăzut în diabet (tabelul IV și fig. 1), este mai favorabil influențat de Daonil la termen scurt de administrare la animalele diabetice, decît la tratamentul cu tolbutamidă.

Tabelul IV

Consumul de glucoză (mg/min./g țesut), exprimat procentual față de normali și dublă raportare față de diabetici

Lotul	Nr. doze	Raportare (%) față de	
		Normali	Diabetici
Normali (N)		100	
N + Daonil	3—5	—3,5	
N + Daonil	12—14	—44,9	
N + Tolbutamidă	3—5	—41,5	
N + Tolbutamidă	12—14	—31,1	
Diabetici (D)		—34,5	100
D + Daonil	2	+ 3,4	+57,8
D + Daonil	12—14	—58,5	—36,9
D + Tolbutamidă	2	— 3,21	+36,8
D + Tolbutamidă	4—8	— 7,6	+15,7

Tabelul V

Fluxul de glucoză în perfuzat exprimat, procentual față de normali și dublă raportare, față de diabetici

Lotul	Nr. doze	Raportare (%) față de:	
		Normali	Diabetici
Normali (N)		100	
N + Daonil	3—5	+ 9	
N + Daonil	12—14	—13,7	
N + Tolbutamidă	3—6	+ 4,5	
N + Tolbutamidă	12—14	+ 4,5	
Diabetici (D)		—22,8	100
D + Daonil	2	—13,4	+11,9
D + Daonil	12—14	— 4,6	+23,5
D + Tolbutamidă	2	— 9,1	+9,9
D + Tolbutamidă	8	+17,6	+41,1

Glucoza regăsită în țesutul cardiac este scăzută la animalele cu diabet și pozitiv influențată de ambele medicamente (tabelul II), de asemenea și fluxul glucozei din perfuzat (tabelul V și fig. 2).

Viteza de formare a lactatului în perfuzat (tabelul VI și fig. 3) arată o scădere marcată la 3—5 doze de Daonil și Tolbutamidă la animalele martor, cu creșterea accentuată la 12—14 doze ; la animalele diabetice se mențin valori scăzute și după instituirea tratamentului. Aceste date trebuie însă corelate cu nivelul lactacidemiei, mult scăzut la animalele diabetice față de martori și care este mai puternic crescut sub efectul Daonilului decît al Tolbutamidei (tabelul III), de asemenea existentul de lactat este mai apropiat de valorile normale în cazul animalelor diabetice tratate cu Daonil, față de cele tratate cu Tolbutamidă.

Interpretarea modificărilor semnalate pe modelul inimii perfuzate cu mediu glicolitic între animalele normale și diabetice și efectele comune

sau diferenţiate ale celor două medicamente antidiabetice studiate (Daonil, Tolbutamidă), coroborate cu particularităţile leziunilor biochimice din diabetul uman, ar putea oferi premisele aplicării unui tratament

Tabelul VI

Viteza de formare a lactatului în perfuzat (mg/min./g/ţesut umed), exprimată procentual faţă de normali şi dublă raportare, faţă de diabetici

Lotul	Nr. doze	Raportare (%) faţă de	
		Normali	Diabetici
Normali (N)		100	
N + Daonil	3—5	— 83,9	
N + Daonil	12—14	+200	
N + Tolbutamidă	3—5	— 82,8	
N + Tolbutamidă	12—14	+105,5	
Diabetici (D)		— 17,6	100
D + Daonil	2	— 44,5	—33,4
D + Daonil	12—14	— 44,5	—33,4
D + Tolbutamidă	2	— 22,3	— 6,7
D + Tolbutamidă	4—8	— 38,9	—13,4

nuanţat, în care este însă necesar să se ţină seama şi de datele recente asupra diferenţelor de compartimentare (în sistemul bi-modal) între glucoza din sînge şi ţesuturi şi de valoarea insulinemiei (1).

CONCLUZII

Modelul perfuziei *in vitro* de organe, realizat pe inimile de şobolani normali şi diabetici şi respectiv trataţi în prealabil cu două antidiabetice larg utilizate în practica medicală : Tolbutamidă şi Daonil, permite relevarea unor niveluri de acţiune biochimică în glicoliză, dintre care menţionăm următoarele :

1. Daonilul, într-o perioadă de timp scurtă de administrare (3—5 zile), manifestă o stimulare puternică a glicolizei aerobe ; la o durată mai lungă (14 zile), stimularea este mai puţin semnificativă. Este de semnalat starea generală mai bună a animalelor diabetice tratate cu Daonil.

2. Tolbutamida stimulează glicoliza mai puţin sensibil faţă de numărul de doze şi creşte valoarea scăzută a lactacidemiei din diabet, fără a o normaliza, în timp ce Daonilul o creşte semnificativ, în special la 2 doze.

3. Perfuzia pe inimă, organ care prezintă importante particularităţi de metabolizare a glucidelor, aduce date noi cu privire la acţiunea diferenţiată a două medicamente antidiabetice orale din aceeaşi clasă (sulfonilureice), la animalele normale sau diabetice.

4. Asemenea date experimentale ce relevă efecte biochimice condiţionate de diferenţele de structură ale unor medicamente din aceeaşi grupă (relaţie structură-activitate biologică) şi de situaţia animalelor (individualitate biochimică), coroborate cu comportamentul bolnavului (datele clinice şi indicatorii biochimici), ar putea oferi criterii pentru o terapie nuanţată, individualizată, care să ţină seama nu numai de efectele majore (acţiunea hipoglicemiantă), ci şi de eventualele acţiuni secundare şi adverse, în concepţia normelor de aplicare ştiinţifică a măsurilor de farmacovigilenţă.

BIBLIOGRAFIE

1. SEGRE G., TURCO G. L., VERCELLONE G. — *Diabetes*, 1973, *22*, 2, 94—103.
2. MANTA I., BEDELEANU D., MUREȘAN LETIȚIA, GORUN VICTORIA — *Stud. cercet. biochim.*, 1961, *IV*, 1, 31—43.
3. MANTA I., BEDELEANU D., LAZĂR TR., GORUN VICTORIA, IONESCU D. — *Fiziol. norm. și pat.*, 1962, *8*, 4, 321—327.
4. MANTA I., BEDELEANU D., MUREȘAN LETIȚIA, BÂRZU O., PITEA P., MISSITS I. — *Fiziol. norm. și pat.*, 1964, *10*, 1, 69—73.
5. MANTA I., BEDELEANU D., BÂRZU O. — *Rev. roum. Biochim.*, 1964, *1*, 1, 11—17.
6. MANTA I., BEDELEANU D. ȘI COLAB. — *Biochem. Pharmacol.*, 1963, *12*, 15.
7. MANTA I., BEDELEANU D. — *Rev. Biol.*, 1966, *11*, 4, 301—307.
8. BEDELEANU D. — Leziuni biochimice intracelulare în ateromatoza experimentală, Teză de doctorat, I.M.F. Cluj, 1966.
9. BEDELEANU D., BÂRZU O., TĂRMURE CORNELIA — Le processus d'énergogenèse dans l'athèromatose expérimentale. Glycolise. ATP-ases. Conflement et constriction mitocondrielle, Regional Congr. of Internat. Union of Physiologie, Brașov, 1970.
10. BÂCLEȘEANU CORNELIA — Cercetări enzimatice asupra acțiunii medicamentelor antidiabetice, Teză de doctorat, Cluj, 1969.
11. BOURECI OLGA — Unele aspecte din efectele metabolice ale Meguanului, *Spitalul*, 1972, *LXXXV*, 1, 65—69.
12. BÂCLEȘEANU CORNELIA, GORUN VICTORIA — *Clujul med.*, 1971, XLIV, 2, 395—408.
13. BÂCLEȘEANU CORNELIA, GORUN VICTORIA — *Clujul med.*, 1971, XLIV, 3, 669—673.
14. SWINGEDAUW B., HYATT P. Y. — *Presse méd.*, 1970, *78*, 5, 211—216 ; 1970, *78*, 10, 459—466.
15. VAHONNY G. V., LILJENQUIST J., WILSON R., LIAO A., RODIS S. L. — *Arch. Biochem. Biophys*, 1968, *125*, 3, 809—816.
16. NELSON N., SOMOGY I. — *J. biol. Chem.*, 1944, 153, 375—380.
17. COLOVICK S. P., KAPLAN N. D. (RED.) — Methods in Enzymology III. Preparation and Assay of Substrates, Ed. Academic Press, Londra — New York, 1957.
18. LOUBATIÈRS A. — *Minerva med.*, 1963, *54*, 30, 1 073—1 077.
19. LEONHARDT W., HANEFELD M., HALLER H. — *Medicamentum (R. D. G.)*, 1973, 27, 14—16.
20. BĂCANU GH. S. — Medicația antidiabetică, Centrala industrială de medicamente și coloranți, București, 1972.
21. RAPTIS S., PFEIFFER E. F. — *Therapiewoche*, 1971, *21*, 578.
22. ANDREEV D. — *Medicamentum (R.D.G.)*, 1973, *27*, 17—23.

Articol intrat în redacție la 12.II.1974

Indicele de clasificare : 615.747—092.254

SUMMARY

D. Bedeleanu, Cornelia Bâcleșanu, Zoe Anca, Magdalena Fărăgău — INVESTIGATIONS ON THE BIOCHEMICAL ACTION OF SOME DRUGS. II. THE METHOD OF ORGAN PERFUSION (HEART) FOR APPRAISING THE EFFECT OF ORAL ANTIDIABETIC DRUGS (DAONIL, TOLBUTAMIDE)

Perfusion *in vitro* of the rat heart, an organ characterized by the absence of gluconeogenesis and the preferential utilization of fatty acids for energizing, revealed the differentiated effects of two oral antidiabetic drugs belonging to the same class : Daonil and Tolbutamide.

Tolbutamide increases glucose consumption with the production of lactate accumulation. Daonil strongly activates glycolysis within a short interval, but this effect loses its significance in a long term treatment. In general, the effects of Daonil in this experimental model are superior to those of Tolbutamide.

The different effects observed may be used as premises for the application of an individualized antidiabetic therapy in terms of the clinical stage and changes in the biochemical parameters.

РЕЗЮМЕ

Д. Беделяну, Корнелия Быклешану, Зое Анка, Магдалена Фэрэгэу — ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВОПРОСУ БИОХИМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Модель перфузии ин витро сердца крысы — органа, характеризующегося отсутствием глюкогенеза — с преимущественным использованием жирных кислот в энергетических целях, позволил авторам установить дифференцированное действие 2 перорально вводимых антидиабетических препаратов Даунила и Толбутамид.

,,Толбутамид'' повышает расходование глюкозы с образованием накоплений лактата, а ,,Даонил'' в течение короткого времени сильно активирует гликолиз— эффект, который теряет свое значение при длительном лечении этим препарататом, действие которого на этой модели превосходит эффект Толбутамида.

Различное действие этих препаратов может служить предпосылкой для нюансированного антидиабетического их действия, в зависимости от изменений биохимических параметров и от стадии клинической картины.

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Noi metode de dozare a Acenocumarolului (Trombostop)

L. Roman, Rodica Crăciuneanu, Eugenia Florean, Iulia Pitea, Lucia Chiorean

Laboratorul de chimie analitică, Facultatea de farmacie, Cluj-Napoca

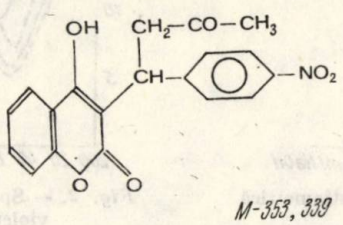
REZUMAT

Acenocumarolul (trombostop, sincumar), anticoagulant de sinteză, are un caracter slab acid, fapt dovedit de autori prin determinarea pKa, spectrofotometric (pKa = 7,9) prin metoda grafică (pKa = 7,75) şi prin metoda potenţiometrică (pKa = 7,8).

Ţinînd seama de caracterul slab acid al acenocumarolului, care se dizolvă în alcali, s-au elaborat noi metode de dozare a acestuia. Astfel s-a dozat acenocumarolul potenţiometric prin titrare cu hidroxid de sodiu, volumetric cu hidroxid de sodiu în mediu apos şi cu metoxid de sodiu în medin neapos metanol), utilizînd în ambele cazuri albastrul de bromtimol ca indicator. Rezultatele obţinute sînt foarte bune, erorile determinărilor încadrîndu-se în limitele de ± 0,94%, în cazul metodei potenţiometrice, de ± 0,09% în cazul determinării în mediu apos şi de ± 0,35% în cazul determinării în mediu neapos.

Toate cele trei metode de dozare a acenocumarolului sînt comode, reproductibile şi precise, putîndu-se utiliza în orice laborator de analiză şi control al medicamentelor.

Acenocumarolul (Trombostop, Sintron, Sincumar), derivat de 4-hidroxi-cumarină [3-(α-acetonil-β-nitrobenzil)-4-hidroxicumarină], este un anticoagulant de sinteză (1—5) frecvent utilizat în terapia modernă:



M-353, 339

M-353, 339

Acenocumarolul este o pulbere cristalină, albă, solubilă în metanol, etanol, acetonă, dimetilformamidă, alcalii, avînd punctul de topire la 191—192°.

Literatura de specialitate oferă puţine date referitoare la determinarea cantitativă a acestei substanţe. Metodele descrise (6), bazate pe reacţia de reducere a grupei nitro- la grupa amino, recomandă dozarea fotocolorimetrică, utilizînd reacţia de formare a unui azocolorant cu β-naftolul sau dozarea polarografică.

Ţinînd seama de faptul că acenocumarolul formează cu alcaliile săruri solubile în apă, cercetările noastre au urmărit determinarea carac-

terului său slab acid, în vederea instituirii unei metode de dozare prin titrare cu hidroxid de sodiu. În acest scop s-a determinat constanta de disociere a acenocumarolului prin metoda potențiometrică și spectrofotometrică.

Caracterul slab acid pe care-l prezintă această substanță medicamentoasă a permis dozarea sa prin titrare potențiometrică și volumetrică în mediu apos cu hidroxid de sodiu și prin titrare în mediu anhidru cu metoxid de sodiu (indicator albastru de bromtimol). Determinările au fost efectuate pe substanța pură; puritatea a fost verificată prin metoda polarografică și prin determinarea punctului de topire.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. *Determinarea constantei de disociere* pK_a

a. *Determinarea potențiometrică a* pK_a. Pentru determinarea pK_a prin această metodă, s-a titrat o soluție de acenocumarol 10^{-2} M în etanol, solvent amfiprotic asemănător apei, cu hidroxid de sodiu 10^{-1} M în etanol 50%. Determinările s-au executat la un pH-metru MV-11, la temperatura de 22 ± 1°C, la o forță ionică constantă ($\mu = 0{,}1$) realizată cu o soluție de azotat de sodiu 1M. În figura 1 este reprezentată curba de titrare potențiometrică a acenocumarolului cu hidroxid de sodiu.

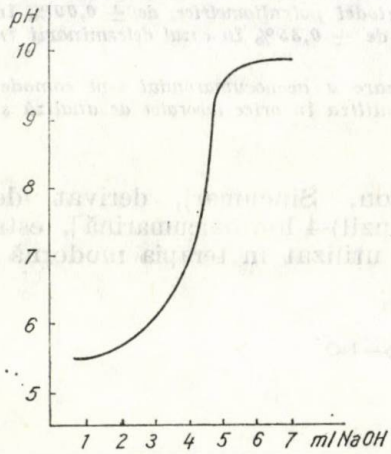


Fig. 1. — Determinarea potențiometrică a pK_a.

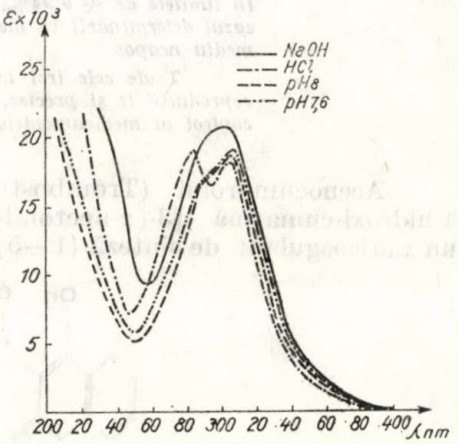


Fig. 2. — Spectrul de absorbție în ultraviolet al acenocumarolului.

Punctul de inflexiune unde $pH_{1/2} = pK_a$, pentru care [A] = [HA] s-a determinat prin metoda folosită de Hahn și Weiller (7) și prin calcul matematic pe baza relației:

$$E[a, b, c; f] = (c-b)\,f(a) - (c-a)f(b) + (b-a)f(c) = \frac{X_n + X_{n-1}}{2}$$

în care funcția f este convexă pentru punctele a, b, c, dacă $[a, b, c; f] > 0$ și concavă dacă $[a, b, c; f] < 0$. Valoarea pK_a determinată astfel este de 7,80.

b) *Determinarea spectrofotometrică a* pK_a. Aceasta se bazează pe modificarea densității optice în funcție de pH. În acest scop s-au executat spectrele în U.V. ale substanței la pH- acid, bazic și intermediar, care nu oferă direct raportul concentrațiilor $[A^-]/[HA]$, dar furnizează mărimea sa, ca rezultat al poziției și intensității absorbției celor două forme, ionizată și neionizată (fig. 2). Deoarece legea Lambert-Beer se verifică în domeniul concentrațiilor de lucru, se poate înlocui concentrația cu extincția corespunzătoare (8, 9) astfel că relația:

$$pK = pH - \log [A^-]/[HA]$$

devine

$$pK = pH - \log \gamma - \log \frac{\varepsilon_T - \varepsilon_A}{\varepsilon_B - \varepsilon_T}$$

unde ε_B este coeficientul molar de extincție al anionului conjugat A^- în mediu bazic ($pH \approx 12$), ε_A este coeficientul molar de extincție al formei nedisociate HA în soluție acidă ($pH = 1$); la valori intermediare ale pH-ului ($pH = 7-8$) ambele forme sînt în echilibru, extincția fiind o combinație liniară a acestora. ε_T reprezentînd coeficientul molar de extincție al amestecului tampon. În relația de mai sus, γ este coeficientul de activitate al anionului A^- a cărui valoare s-a calculat utilizînd formula lui Debye-Hückel (10).

$$-\log \gamma = \frac{A\sqrt{\mu}}{aB + \sqrt{\mu}}$$

în care μ reprezintă forța ionică a mediului: $\mu = \frac{1}{2}\sum c_i z_i^2$, c fiind concentrația molară a ionilor, iar z sarcina lor. Avînd în vedere că în condițiile de lucru concentrația A^- este foarte mică ($c = 10^{-6}M$), tăria ionică a mediului devine practic egală cu aceea a tamponului, ca și valorile parametrilor $A = 0{,}51$ și $B = 0{,}33$, raza ionului A^- fiind $a = 3Å$, relația de calcul a coeficientului de activitate devine:

$$-\log \gamma = \frac{0{,}51\sqrt{\mu}}{1 + \sqrt{\mu}}$$

Determinările spectrofotometrice au fost executate la un spectrofotometru VSU-2P Zeiss Jena, în domeniul 200—400 nm, utilizînd cuva de 1 cm și o soluție de acenocumarol de $c = 10^{-6}$ M în etanol. Aceste determinări au permis calcularea coeficienților molari de extincție ε_B la $pH \approx \approx 12$ (soluție de NaOH 10^{-1}M), ε_A la $pH \approx 1$ (soluție de HCl 10^{-1}M) și ε_T la pH intermediar (pH ≈ 8; 7, 8; 7, 2) realizat cu o soluție tampon acid citric-fosfat disodic, cuprins între pK—1 și pK+1. Lungimile de undă au fost selecționate în domeniul 300—320 nm, unde curbele sînt suficient de îndepărtate, iar legea Lambert-Beer se respectă. Rezultatele experimentale obținute și valoarea pK_a calculată sînt date în tabelul I.

Pe baza determinărilor spectrofotometrice s-a determinat valoarea pK_a și prin metoda grafică directă (9) (fig. 3). Rezultatele obținute sînt redate în tabelul II. Valoarea $pK_a = 7{,}75$ este în bună concordanță cu rezultatele obținute anterior prin metoda potențiometrică.

Tabelul I

Determinarea spectrofotometrică a pK_a

λ nm	ε pH = 12 $mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	ε pH = 8 $mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	ε pH = 7,6 $mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	ε pH = 7,2 $mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	ε pH = 1 $mol^{-1} \cdot cm^{-1}$	pK	pK mediu
320	13975	13200	12990	12830	12370	7,899	
316	16415	15680	15380	15083	14215	7,675	
312	18589	17321	17620	16901	15289	8,047	7,903
310	19510	18334	18007	17710	16605	7,827	
308	19937	18755	18398	18070	17750	8,067	

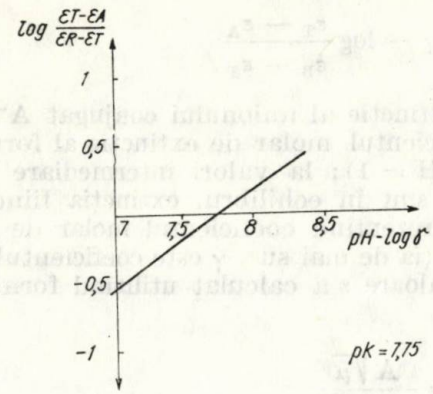


Fig. 3. — Determinarea pK_a prin metoda grafică.

Tabelul II

Determinarea pK_a prin metoda grafică directă

pH	$-\log \gamma$	$pH - \log \gamma$	$\frac{\varepsilon_T - \varepsilon_A}{\varepsilon_B - \varepsilon_T}$	$\log \frac{\varepsilon_T - \varepsilon_A}{\varepsilon_B - \varepsilon_T}$	pK
8	0,132	8,132	1,4701	0,167	7,75
7,6	0,130	7,730	0,932	1,969	
7,2	0,128	7,328	0,380	1,579	

Pe baza determinărilor potenţiometrice şi spectrofotometrice s-a calculat valoarea medie a $pK_a = 7,81$, care demonstrează caracterul slab acid al acenocumarolului (10, 11, 12).

2. *Determinarea cantitativă a acenocumarolului*

a. *Determinarea potenţiometrică.* Pentru această determinare s-a utilizat o soluţie de acenocumarol 10^{-2} M în etanol, iar ca soluţie titrantă s-a utilizat o soluţie de hidroxid de sodiu 10^{-1} M în etanol 50%. Determinările s-au efectuat la un titrimetru MT-13 Ilmenau, avînd ca electrod de referinţă electrod de calomel, iar ca electrod indicator, cea de platină. Punctul de echivalenţă a fost determinat prin metoda grafică şi aceea a lui Hahn-Weiller şi corespunde raportului de un echivalent acencocumarol la un echivalent de hidroxid raport de combinare 1 : 1. Rezultatele experimentale obţinute sînt redate în tabelul III, care cuprinde şi interpretarea statistică a rezultatelor. Erorile determinărilor sînt cuprinse între +0,54% şi 0,65%, încadrîndu-se foarte bine în limitele erorilor admise pentru această metodă.

Tabelul III

Dozarea potenţiometrică a acenocumarolului

Nr. crt.	Substanţă luată în lucru (g)	Substanţă găsită (g)	Substanţă (%)	Eroarea faţă de media $\overline{X}$	Calcul statistic
1	0,17853	0,17849	99,98	−0,61	$\overline{X} = 100,59$
2	0,16765	0,16910	100,90	+0,31	$S = 7,49.10^{-1}$
3	0,13674	0,13823	101,13	+0,54	$S_{\overline{X}} = 3,39.10^{-1}$
4	0,01785	0,01803	101,02	+0,43	$A = 100,59 \pm 0,942\%$
5	0,01598	0,01597	99,94	−0,65	

b. *Determinarea volumetrică.* Pe baza cercetărilor întreprinse s-au elaborat două metode de determinare cantitativă a acenocumarolului, una în mediu apos, alta în mediu neapos.

În mediu apos, acenocumarolul a fost dozat în limitele de concentraţie 0,02—0,06 g, prin titrare cu o soluţie de hidroxid de sodiu 10^{-2} M în etanol 50%, în prezenţa albastrului de bromtimol ca indicator (viraj 6,0—7,6). Rezultatele experimentale sînt date în tabelul IV; din interpretarea statistică a rezultatelor rezultă că precizia metodei este foarte bună, aproximativ ± 0,1%.

Tabelul IV

Dozarea volumetrică a acenocumarolului în mediu apos

Nr. crt.	Substanţă luată în lucru (g)	Substanţă găsită (g)	Substanţă (%)	Eroare faţă de media $\overline{X}$	Calcul statistic
1	0,02483	0,02476	99,75	−0,12	$\overline{X} = 99,87$
2	0,02841	0,02834	99,77	−0,10	$S = 1,38.10^{-1}$
3	0,03196	0,03193	99,92	+0,05	$S_{\overline{X}} = 4,58.10^{-2}$
4	0,03552	0,03553	100,03	+0,16	$A = 99,87 \pm 0,105$
5	0,03900	0,03991	100,01	+0,14	
6	0,06122	0,06123	100,05	+0,18	
7	0,06153	0,06144	99,85	−0,02	
8	0,06223	0,06208	99,76	−0,11	
9	0,05647	0,05629	99,68	−0,19	

În mediu anhidru, dozarea acenocumarolului s-a făcut pe probe de 0,1—0,5 g substanţă dizolvată în metanol anhidru, prin titrare cu o

Tabelul V

Dozarea volumetrică a acenocumarolului în mediu neapos

Nr. crt.	Substanţă luată în lucru (g)	Substanţă găsită (g)	Substanţă (%)	Eroare faţă de media $\overline{X}$	Calcul statistic
1	0,21565	0,21541	99,90	+0,23	
2	0,18567	0,18625	100,32	+0,65	
3	0,17460	0,17504	100,26	+0,59	$\overline{X} = 99,67$
4	0,39041	0,38826	99,45	−0,22	$S = 4,93.10^{-1}$
5	0,39641	0,39275	99,08	−0,59	$S_{\overline{X}} = 1,55.10^{-1}$
6	0,39841	0,39590	99,14	−0,53	$A = 99,67 \pm 0,53\%$
7	0,39943	0,39721	99,45	−0,22	
8	0,40528	0,40174	99,13	−0,54	
9	0,41422	0,41291	99,69	+0,02	
10	0,53513	0,53660	100,26	+0,59	

soluție de metoxid de sodiu 10^{-1} M în metanol, în prezența albastrului de bromtimol ca indicator. Rezultatele experimentale sînt redate în tabelul V; din interpretarea statistică a rezultatelor rezultă că precizia metodei este de $\pm$ 0,35%.

CONCLUZII

S-a întreprins un studiu spectrofotometric al acenocumarolului în ultraviolet la pH acid, bazic și intermediar, iar valoarea pK_a calculată (7,90) și comparată cu valoarea pK_a obținută prin metoda potențiometrică (pK_a mediu $\simeq$ 7,81) demonstrează caracterul slab acid al acenocumarolului.

Avînd în vedere caracterul slab acid al acestei substanțe, s-au instituit noi metode de dozare a acenocumarolului prin titrare potențiometrică în mediu apos cu hidroxid de sodiu și prin titrare volumetrică în mediu apos și neapos cu hidroxid de sodiu, respectiv cu metoxid de sodiu.

Din interpretarea statistică a rezultatelor experimentale obținute rezultă că atît metoda potențiometrică, cît și metodele volumetrice se pot aplica cu rezultate foarte bune la dozarea acenocumarolului.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Produse farmaceutice românești, Ed. medicală, București, 1972.
2. CIORĂNESCU E. — Medicamente de sinteză, Ed. tehnică, București, 1966, p. 399.
3. * * * — Remington's Pharmaceutical Sciences, Easton, 1965.
4. VALETTE G. — Medicaments organiques de synthèse, vol. IV, Paris, 1971.
5. JINDAL N. M., SHAH D. S. — *Arzneimittel Forsch.*, 1966, *16*, 876.
6. FLODERA J., HARVATHY V. — *Acta pharm. hung.*, 1960, *4*, 156.
7. HAHN F. L., WEILLER S. — *Z. analyt. Chem.*, 1926, *69*, 417.
8. RAO C. N. — Ultraviolet and Visible Spectroscopy, Ed. Butterworth, Londra, 1967.
9. MARONI P., CALMAN J. P. — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1964, *3*, 519.
10. LITEANU C. — Chemie analitică cantitativă volumetria, ed. a VI-a, Ed. didactică și pedagogică, București, 1972.
11. GYENES Y. — Titration in non-aqueous media, Ed. Akadémiai Kiadó, Budapesta, 1967.
12. KEKEDY L. — Analiza fizico-chimică, Ed. didactică și pedagogică, București, 1969.

Articol intrat în redacție la 13.VII.1974

Indicele de clasificare: 615.771.6 Acenocumarol

SUMMARY

L. Roman, Rodica Crăciuneanu, Eugenia Florean, Iulia Pitea, Lucia Chiorean — NEW METHODS FOR THE DETERMINATION OF ACENOCOUMAROL (THROMBOSTOP

Acenocumarol (Thrombostop, Sincumar), a synthetic anticoagulant, has a slightly acid character as proved by spectrophotometric determination of pKa (pKa = 7.9) and by the graphical (pKa = 7.75) and potentiometric methods (pKa = 7.8).

In view of the slightly acid characteristic of acenocoumarol, that solves in alkalies, new methods for its determination were devised: potentiometric by titration with sodium hydroxide, volumetric with sodium hydroxide in aqeous medium and with sodium metoxide in non-aqeous medium (methanol), using in both cases bromthymol blue as indicator. Reliable results were obtained, the error being of $\pm$ 0.94% with the potentiometric method, $\pm$ 0.09% when determined in aqeous medium and $\pm$ 0.35% when determined in non-aqeous medium.

All theree methods for the determination of acenocoumarol are readily applicable, reproducible and precise and can be used in any laboratory for the analysis and control of drugs.

РЕЗЮМЕ

Л. Роман, Родика Крэчиунеану, Еуджения Флореан, Юлия Питя, Лучия Киореан — НОВЫЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦЕНОКУМАРОЛА („ТРОМБОСТОП").

Аценокумарол („Тромбостоп", „Синкумар"), синтетический антикоагулант, обладает слабыми кислыми свойствами, что авторы доказали путем спектрофотометрического определения pKa (pKa — 7,9), при помощи графического метода (pKa = 7,75) и при помощи потенциометрического метода (pKa = 7,8).

Принимая во внимание слабые кислые свойства аценокумарола, который растворяется в щелочах, авторы разработали новые методы его количественного определения. Так, например, ацепокумарол был количественно определен при помощи потенциометрического метода путем его титрования гидратом окси натрия, при помощи волюметрического метода — гидратом окиси натрия в водной среде и при помощи метоксидонатрия — в безводной среде (метаноле) с применением в обоих этих случаях синего бромтимола в качестве индикатора. Полученные результаты можно считать весьма хорошими, так как допустимые погрешности находятся в пределах $\pm 0{,}94\,\%$ при применении потенциометрического метода, $\pm\ 0{,}09\,\%$ при определениях в водной среде и $\pm\ 0{,}35\,\%$ при определениях в безводной среде.

Все эти 3 метода количественного определения аценокумарола являются удобными, легко воспроизводимыми, точными, и они могут быть использаны в любой лаборатории для анализа и контроля лекарственных препаратов.

Mesajul de bun venit adresat de dr. ***W. E. Boles,***

Președintele Congresului

Am plăcerea să vă aduc la cunoștință că lucrările de organizare pentru cel de al 35-lea Congres Internațional de Farmacie de la Dublin, din septembrie 1975, se desfășoară satisfăcător. Numărul mare de solicitări pentru înscrierea lucrărilor indică însemnătatea acestui eveniment. O trăsătură remarcabilă este și larga răspundere geografică a țărilor participante. Fără îndoială, astăzi FIP este cu adevărat o organizație mondială, care a întărit legătura dintre organizațiile farmaceutice din lumea întreagă.

Această dezvoltare a avut și are drept rezultat un puternic beneficiu pentru farmacia și farmaciștii de pretutindeni, implicit un real folos pentru marele public.

Principalul obiectiv al Comitetului de organizare irlandez este să asigure o desfășurare perfectă a programului științific. În același timp nu este neglijată buna primire și confortul oaspeților noștri. Sînt convins că participanții la Congres vor descoperi în Dublin, un oraș atrăgător și odihnitor. Locuitorii din Dublin sînt mîndri că orașul lor este acela care a dat literaturii mondiale figuri celebre ca : Q. Wilde, Yeats, Joyce și O'Casey ; oaspeții vor descoperi cu această ocazie și alte personalități mondiale ale artei și literaturii.

Tema Congresului este actuală. Printre profesiile din domeniul sănătății farmaciștii ocupă un loc hotărîtor în asigurarea publicului larg de eficacitatea si securitatea produselor puse la dispoziție. De asemenea, medicii au rolul lor decisiv în prevenirea și tratamentul bolilor.

Pentru buna stare a sănătății oamenilor este bine să ne întîlnim din cînd în cînd, în vederea unui schimb de păreri asupra unor expuneri de teme.

Adresez un cordial salut tuturor cititorilor acestei reviste și doresc ca acest congres să fie cît mai fructuos.

Dr. Ph. William E Boles
Președintele Comitetului
de organizare

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Capacitatea de extracție a unor solvenți asupra stricninei

Vasilica Antonescu

Laboratorul de chimie fizică, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *S-a cercetat capacitatea de extracție a cloroformului, alcoolului amilic, alcoolului n-butilic, a clorurii de metilen, dicloretanului și eterului de petrol asupra stricninei aflată în soluție apoasă. S-a stabilit pentru fiecare solvent pH-ul optim de extracție. S-a utilizat pentru cercetare spectrofotometria în U.V.*

Numărul crescînd de medicamente pune în fața analiștilor farmacologi și toxicologi probleme tot mai dificile, ceea ce a făcut absolut necesară introducerea metodelor fizico-chimice moderne de cercetare pe scară tot mai largă.

Dintre acestea, introducerea spectrofotometriei în I.R. și U.V. în laboratoarele de studii și cercetări toxicologice prezintă avantajul identificării și dozării rapide a substanțelor toxice.

Cunoașterea capacității de extracție a solvenților organici folosiți în izolarea produșilor, precum și a pH-ului optim al soluției, prezintă un deosebit interes pentru practica de laborator.

În prezenta lucrare ne propunem să aducem o contribuție referitoare la capacitatea de extracție a unor solvenți organici uzuali, comparativ cu alții mai puțin uzuali, precum și stabilirea pH-ului optim de extracție a acestora asupra stricninei, folosind ca metodă de dozare spectrofotometria în U.V.

Autorii (1, 5, 8, 10, 11, 12) citați în literatura de specialitate recomandă pentru extracția stricninei cloroformul, eterul, alcoolul amilic, indicînd ca pH optim de extracție valori cuprinse între 5 și 8.

În lucrarea de față ne referim la determinarea capacității de extracție asupra stricninei, funcție de pH, a următorilor solvenți organici : alcool amilic, alcool n-butilic, cloroform, clorură de metilen, dicloretan și eter de petrol.

Determinările spectrofotometrice s-au efectuat cu ajutorul spectrofotometrului Beckmann cu înregistrare automată.

Prima etapă a cercetării noastre a constat în precizarea concentrației de stricnină necesară determinărilor spectrofotometrice.

Spectrul molecular al stricninei s-a realizat în soluție apoasă cu conținut 20 μg/ml stricnină bază ; el prezintă un maximum caracteristic la 255 nm.

Prepararea curbei etalon, necesară interpretării rezultatelor, s-a obținut prin diluarea cu apă distilată în proporție de 1/0 ; 1/3 ; 2/3 ; 3/1

Tabelul I

Proba nr.	V_1	V_2	C µg/ml	A
1	5	0	20	0,81
2	15	5	15	0,58
3	10	10	10	0,39
4	5	15	5	0,20

volume de soluţii apoase de stricnină iniţială în concentraţie de 20 µg/ml. Rezultatele obţinute sînt prezentate în tabelul I.

În care V_1 = ml soluţie apoasă de stricnină ; V_2 = ml apă distilată, C = stricnină bază µg/ml ; A = absorbţia soluţiei apoase de stricnină.

Prin înscrierea datelor pe abscisă şi ordonată, respectiv absorbţia şi concentraţia, punctele obţinute se înscriu pe o dreaptă, ceea ce dovedeşte că domeniul de concentraţie ales pentru lucru verifică legea lui Beer. În figura 1 este dată reprezentarea grafică a curbei etalon.

Soluţiile experimentale sînt de 20 µg/ml stricnină bază, aduse la pH-uri între 6 şi 12 cu ajutorul soluţiilor standard Merck.

TEHNICA DE LUCRU

În balcane de sticlă cu dop rodat s-au introdus volume egale (30 ml) de soluţie apoasă de sulfat de stricnină şi solvent.

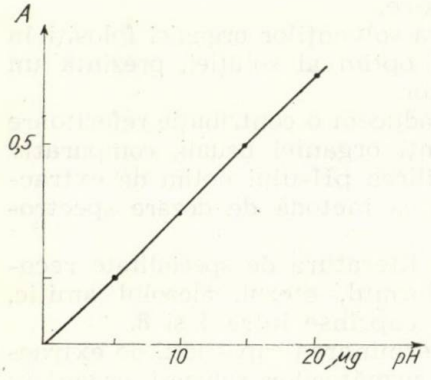


Fig. 1.

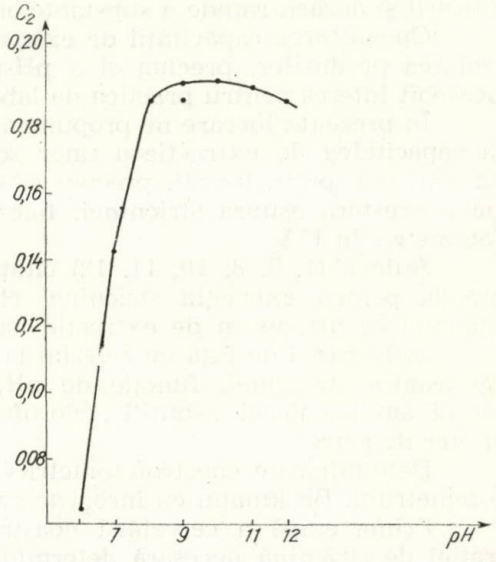


Fig. 2. — Variaţia concentraţiei de stricnină extrasă cu alcool amilic, în funcţie de pH-ul soluţiei apoase. →

Soluţiile iniţiale de stricnină, aduse la pH-uri cuprinse între 6 şi 12, au fost supuse determinării spectrofotometrice.

La această variaţie de pH s-a constatat o deplasare insensibilă a maximului de absorbţie al soluţiei de stricnină.

Baloanele conținînd probele compuse din volume egale de solvent și soluție au fost supuse agitării timp de 30 de minute, cu un agitator electric, la temperatura de 20 $\pm$ 1°.

Operația de extracție a fost repetată de 3 ori cu volume egale din același solvent. Separînd stratul apos, acesta a fost supus, după o prealabilă acidulare, unei noi citiri spectrale.

Probele efectuate pentru fiecare solvent și pH în parte au fost în număr de 4, iar citirile spectrale s-au făcut avînd de fiecare dată o soluție martor din pH-ul respectiv, agitată și separată, identic cu proba de cercetat.

În tabele sînt trecute date ce constituie media aritmetică a rezultatelor, datele fiind adesea apropiate ca ordin de mărime.

Tabelul II

Rezultatele extracției cu alcool amilic a strichninei din soluție apoasă

pH	C_i	A_i	$\overline{A}$	ΔA	C_1	C_2	E%
6	0,02	0,81	0,53	0,28	0,0135	0,0065	32,5
7	0,02	0,80	0,21	0,59	0,057	0,0145	71,5
8	0,02	0,83	0,05	0,78	0,0012	0,0188	94
9	0,02	0,80	0,03	0,77	0,0017	0,0193	96,5
10	0,02	0,80	0,03	0,77	0,0017	0,01193	96,5
11	0,02	0,80	0,04	0,76	0,0010	0,0190	95
12	0,02	0,82	0,04	0,78	0,0012	0,0188	94

C_i = concentrația de stricnină bază $g^0/_{00}$.
A_i = absorbția inițială a soluției apoase de stricnină bază în concentrație de 20 μg/ml.
$\overline{A}$ = absorbția medie a soluției de stricnină după extracție.
$\Delta A = A_i - \overline{A}$.
C_1 = concentrația stricninei bază rămasă în apă.
C_2 = concentrația stricninei bază trecută în solvent.
E% = extracția procentuală de stricnină.

Reprezentînd grafic pH-ul funcție de cantitatea de stricnină extrasă cu alcoolul amilic (notată cu C_2), obținem curba din figura 2, de unde rezultă că alcoolul amilic face o puternică extracție la pH-uri cuprinse între 8 și 12 procente de 94—96,5%. Ceea ce dovedește că mediul alcalin este suficient pentru o bună extracție a alcaloidului aflat în mediu apos.

Extracția cu cloroform s-a experimentat folosind același mod de lucru, iar rezultatele obținute sînt înscrise în tabelul III.

Datele obținute conduc la concluzia că extracția cloroformului asupra stricninei începe chiar de la pH-ul 6, unde procentajul obținut este foarte mare — de 91,5% — acesta se menține ridicat pînă la pH-ul 11, scăzînd foarte ușor, către pH-ul 12, ceea ce demonstrează că numai alcalinizarea soluției este suficientă pentru obținerea unei extracții cantitative.

În graficul din figura 3 sînt reprezentate C_2 (concentrația stricninei în cloroform) funcție de pH.

Un solvent mai puțin utilizat și cercetat de noi este n-butanolul. Folosind același mod de lucru, am obținut rezultatele expuse în tabelul IV. Acest solvent mai puțin utilizat prezintă o mare capacitate de

Tabelul III

Rezultatele extracției cu cloroform a strieninei din soluție apoasă

pH	C_i	A_i	$\overline{A}$	ΔA	C_1	C_2	E%
6	0,02	0,81	0,07	0,74	0,0017	0,0183	91,5
7	0,02	0,81	0,05	0,76	0,0012	0,0188	94
8	0,02	0,81	0,04	0,77	0,0010	0,0190	95
9	0,02	0,81	0,05	0,76	0,0012	0,0188	94
10	0,02	0,81	0,04	0,77	0,0010	0,0190	95
11	0,02	0,82	0,04	0,78	0,0010	0,0190	95
12	0,02	0,82	0,06	0,76	0,0015	0,0185	92,5

extracție, rezultatele obținute la extracție sînt între 95 și 92,5% la pH-uri cuprinse între 8 și 12.

Reprezentînd grafic variația concentrației funcției de pH, se obține curba din figura 4.

Un alt solvent mai puțin uzual și experimentat de noi este clorura de metilen.

În tabelul V sînt expuse rezultatele obținute ca urmare a experimentării extracției cu clorură de metilen asupra stricninei în soluție apoasă, adusă la pH-uri cuprinse între 6 și 12.

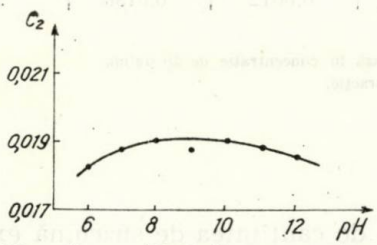


Fig. 3. — Variația concentrației de stricnină extrasă cu cloroform în funcție de pH.

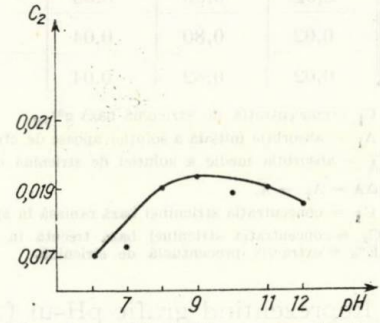


Fig. 4. — Variația concentrației de stricnină extrasă cu *n* — butanol în funcție de pH.

Tabelul IV

Rezultatele obținute la extracția cu n-butanol a strieninei în soluție apoasă

pH	C_i	A_i	$\overline{A}$	ΔA	C_1	C_2	E%
6	0,02	0,081	0,12	0,69	0,0030	0,0170	85
7	0,02	0,081	0,11	0,70	0,0028	0,0172	86
8	0,02	0,081	0,04	0,77	0,0010	0,0190	95
9	0,02	0,081	0,03	0,78	0,0007	0,0193	96,5
10	0,02	0,081	0,05	0,76	0,0012	0,0188	95
11	0,02	0,081	0,05	0,76	0,0010	0,0190	95
12	0,02	0,081	0,06	0,75	0,0015	0,0185	92,5

Tabelul V

Rezultate obținute la extracția cu clorură de metilen a strieninei în soluție apoasă

pH	C_i	A_i	$\bar{A}$	ΔA	C_1	C_2	E%
6	0,02	0,80	0,25	0,55	0,0065	0,0135	67,5
7	0,02	0,81	0,15	0,66	0,035	0,0165	82,5
8	0,02	0,81	0,12	0,69	0,0030	0,0170	85
9	0,02	0,80	0,11	0,69	0,0028	0,0172	86
10	0,02	0,82	0,12	0,70	0,0030	0,0170	85
11	0,02	0,80	0,13	0,67	0,0032	0,0168	84
12	0,02	0,82	0,15	0,67	0,0035	0,0165	82,5

Reprezentînd grafic variația concentrației funcție de pH se obține curba din figura 5.

Se observă că aceasta extrage procente destul de mari de stricnină, ajungîndu-se la 86—87 de procente la pH-ul 9—10.

Experimentînd capacitatea de extracție a dicloretanului asupra stricninei, folosind același mod de lucru, am obținut rezultatele inserate în tabelul VI.

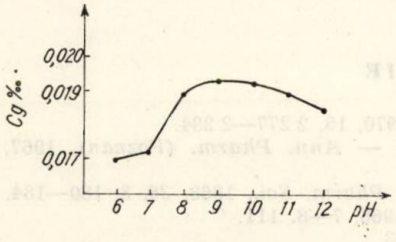


Fig. 5. — Stricnină extrasă cu clorură de metilen.

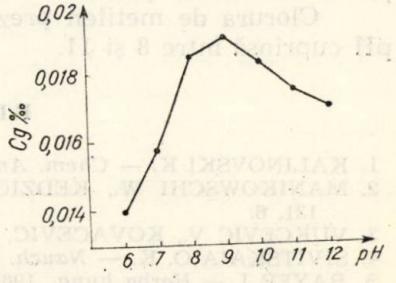


Fig. 6. — Stricnină extrasă cu dicloretan

Tabelul VI

Rezultate obținute la extracția cu dicloretan a strieninei din soluție apoasă

pH	C_i	A_i	$\bar{A}$	ΔA	C_1	C_2	E%
6	0,02	0,81	0,34	0,47	0,0060	0,0140	70
7	0,02	0,81	0,29	0,52	0,0042	0,0158	79
8	0,02	0,80	0,06	0,74	0,0015	0,0185	92,5
9	0,02	0,81	0,04	0,77	0,0010	0,0190	95
10	0,02	0,81	0,07	0,74	0,0017	0,0183	91
11	0,02	0,81	0,10	0,71	0,0025	0,0175	87
12	0,02	0,82	0,12	0,70	0,0030	0,0170	86

Extracţiile procentuale obţinute cu dicloretan asupra stricninei, începînd cu pH-ul 8 pînă la pH-ul 10, sînt foarte apropiate.

Rezultatele noastre fiind de 91—95%, pU-ul optim de extracţie este 9, la care am obţinut 95% substanţă, faţă de cantitatea luată în studiu.

Reprezentînd grafic variaţia concentraţiei funcţie de pH se obţine curba din figura 6.

CONCLUZII

S-a determinat experimental, folosind spectrofotometria în U.V., capacitatea de extracţie asupra stricninei a următorilor solvenţi uzuali şi mai puţin uzuali : alcool amilic, cloroform, n-butanol, clorură de metilen şi dicloretan.

S-a stabilit că alcoolul amilic, solvent uzual, are o foarte bună capacitate de extracţie asupra stricninei de 96,5% la pH 9.

S-a determinat capacitatea de extracţie a n-butanolului, solvent mai puţin uzual, dar tot atît de eficace ca şi alcoolul amilic, care la pH 9 extrage 96,5 procente din cantitatea de substanţă experimentată.

Experimentările făcute cu cloroformul şi apoi cu alţi derivaţi cloruraţi ai metanului şi etanului, ca : clorură de metilen şi dicloretan, au dat rezultate foarte bune.

Astfel, cloroformul a prezentat 94—95 de procente de substanţă extrasă la pH-uri cuprinse între 7 şi 11, iar dicloretanul prezintă şi la pH 9 tot 95 de procente. Evident, ei au aceeaşi putere de extracţie.

Clorura de metilen prezintă numai 85—86 de procente în zona de pH cuprinsă între 8 şi 11.

BIBLIOGRAFIE

1. KALINOVSKI K. — *Chem. Anal. (Varşovia)*, 1970, 15, 2 277—2 284.
2. MANIKOWSCHI W., KEDZIORA ZBIGNIEV — *Ann. Pharm. (Poznan)*, 1967, 131, 6.
3. VUKCEVIC V., KOVACEVIC, V. BOZIN — *J. Pharm. Sci.*, 1968, *36*, 3, 180—184.
4. SIVITSKAIA O. K. — *Nauch. Iss. Med. Inst.*, 1966, 7—8, 111.
5. BAYER I. — *Herba hung.*, 1966, *5* (2—3), 81—83.
6. BARETT J., PUCKETT M., RAMONE — *J. Pharm. Sci.*, 1968, *57*, 7, 1 249—1 256.
7. BURTON W. — *J. Ass. offic. Anal. Chem.*, 1967, *50*, 3, 660—662.
8. CELAP M. B., JANGIC F. G. — *Microchim. Ichino. anal.*, 1963, 5—6, 1 043—1 045.
9. LEVINE J. — *J. Pharm. Sci.*, 1965, 54, 3.
10. LEVINE J. — *J. Pharm. Sci.*, 1968, *57*, 4, 631—633.
11. MORGAN M., TRUITT E. — *J. Pharm. Sci.*, 1965, *54*, 1 640.
12. ZARNAC J., PFEIFER P. — *Pharmazie*, 1963, *18*, 288—294.

Articol intrat în redacţie la 4.II.1974.

Indicele de clasificare : 615.785.1

SUMMARY

Vasilica Antonescu — THE CAPACITY OF SOME SOLVENTS TO EXTRACT STRYCHNINE

Investigations were carried out on the capacity of chloroform, ethylic alcohol, n-butylic alcohol, methylen chloride, dichlorethane and petrol ether to extract strychnine from an aqeous solution. The optimal extraction pH was determined for each solvent. The determinations were performed spectrophotometrically in UV light.

РЕЗЮМЕ

Василика Антонеску — СПОСОБНОСТЬ НЕКОТОРЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ К ИЗВЛЕЧЕНИЮ СТРИХНИНА

Авторы исследовали способность хлороформа, этиолового спирта, н-бутилового спирта, хлористого метилена, дихлоретана и петролейного эфира извлекать стрихнин из водного раствора. Для каждого из этих растворителей был установлен оптимальный pH для извлечения. При исследования спектра была использована фотометрия У. В.

REFERATE

ROLUL CERCETĂRILOR BIOFARMACEUTICE ÎN OPTIMIZAREA ACŢIUNII TERAPEUTICE A MEDICAMENTELOR, **Per Finholt,** Informationsdienst A.P.V., 1974, 20 (4), p. 279—294

În această lucrare autorii efectuează în primul rînd cercetări asupra influenţei formulei de preparare asupra vitezei de dizolvare a medicamentelor *in vitro* şi asupra vitezei lor de absorbţie *in vivo*. Se studiază influenţa polimorfismului, a mărimii particulelor, a tensiunii superficiale ale substanţelor medicamentoase, precum şi a excipienţilor folosiţi pentru comprimarea acestora asupra celor doi factori de mai sus, la acidul feniletilbarbituric şi sarea de sodiu a acestuia, la difenilhidantoină şi sarea de sodiu, la fenacetină şi la cloramfenicol. Cercetările *in vitro* s-au efectuat în soluţie de acid clorhidric 0,1 N, precum şi în suc gastric uman, iar cele *in vivo* prin determinări în serul sanguin după administrarea comprimatelor respective la om.

Cercetările au arătat că sarea de sodiu a acidului feniletilbarbituric se dizolvă cu mult mai repede în acidul clorhidric 0,1 N, precum şi în sucul gastric uman, decît acidul feniletilbarbituric. Această diferenţă se constată şi cu difenilhidantoina de sodiu faţă de acidul liber, dar nu în aceeaşi măsură.

Influenţa mărimii particulelor a fost studiată cu pulberea şi comprimatele de fenacetină şi de fenilhidantoină, constatîndu-se că la ambele substanţe viteza de dizolvare creşte, încît mărimea particulelor este mai mică numai în prezenţa unei substanţe tensioactive (Tween 80), datorită caracterului puternic hidrofob al acestora.

Influenţa excipienţilor a fost pusă prin studiul unor comprimate de acid feniletilbarbituric şi de cloramfenicol realizate cu gelatină, carboximetilceluloză sodică şi carbomax 6000. S-a constatat că viteza de dizolvare a substanţelor active a fost cea mai mare la ambele sortimente în cazul folosirii gelatinei cu excipient aglutinant, urmat de carboximetilceluloza sodică şi apoi de carbomax. Încetinirea dizolvării în cazul carbomaxului se poate explica prin formarea unor complecşi cu substanţa medicamentoasă, iar în cazul carboximetilcelulozei sodice prin schimbarea pH-ului.

Cercetările biofarmaceutice de mai sus pot furniza după părerea autorilor, date preţioase în stabilirea formulei de preparare a medicamentelor cu administrare perorală.

I. Cruceanu

UNELE MODIFICĂRI ALE GELATINEI OFICINALE SUB INFLUENȚA IRADIAȚIILOR IONIZANTE, **Dr. Lengyel Julia,** Gyógyszerészet 1974, *18*, 247—252

Autorul schițează procesele de inhibare, de gelificare și de uscare a gelatinei, precum și considerațiile teoretice referitoare la influențarea consistenței gelului. Apoi redă rezultatele cercetărilor proprii privind influența iradiațiilor ionizante asupra proprietăților gelatinei. Din aceste rezultate autorul trage următoarele concluzii :

Foliile de gelatină iradiate cu doza de 1 mrad nu suferă modificări semnificative. După doze de 2 mrazi unii parametri prezintă ușoare alterări (punctul de topire al gelului 10% scade cu 1°, vîscozitatea unei soluții coloidale 10% scade cu 4 c.P. consistența gelului scade cu 22° penetrometrice la 20°C). La o iradiere cu doze superioare de 4 mrazi apare o degradare calitativă pronunțată.

Cu doze pînă la 2 mrazi gelatina uscată nu numai că nu prezintă modificări semnificative, ci parametri de îmbibare se îmbunătățesc chiar și scade pericolul contaminării microbiene. Prin urmare, prin iradierea ionizantă se realizează o îmbunătățire calitativă a gelatinei, atît din punctul de vedere al industriei alimentare, cît și din punct de vedere farmaceutic.

I. Cruceanu

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Modificarea permeabilității cutanate după aplicarea preparatelor dermice

Nota III. Acțiunea unguentelor cu vitamine*

Adriana Popovici

Disciplina de tehnică farmaceutică, I.M.F. Tîrgu Mureș

REZUMAT *S-a efectuat un studiu asupra transferului ionilor de Na^+ prin tegument de broască, sub acțiunea a 4 unguente (gel de polietilenglicoli, 2 unguente hidrofile și un gel cu metilceluloză) care conțineau vitaminele A, B_1, B_2, B_6, C, D_3 și PP, în prezența și lipsa hialuronidazei. Din studiul dinamicii de transport și a determinării cantitative a sodiului, se precizează potențialul penetrant al bazelor de unguent ionogene influențat favorabil de prezența hialuronidazei în asocierea cu vitaminele A, complexul B, C și PP.*

Gelul cu polietilenglicoli constituie o barieră în transferul cutanat iar adiția hialuronidazei gelului cu metilceluloză este defavorabilă vitaminei D_3, B_2, A și C.

Studiul cinetic al transferului medicamentelor prin membrane biologice, amplu studiat pe diferite bioteste (1, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12) în cercetări anterioare (13, 16, 17), utilizînd tegumentul izolat de broască pentru studiul transportului activ al ionilor de sodiu sub acțiunea unor medicamente incorporate în diferite preparate dermice, ne-a permis să evidențiem efectul selectiv al bazei de unguent comparativ cu adaosul unor medicamente din clasa steroizilor, antibioticelor și a unor factori de creștere a permeabilității cutanate.

În continuarea studiului nostru ne-am propus urmărirea efectului diferitelor geluri pentru aplicație dermică cu conținut de vitamine, asupra tegumentului cutanat și posibilitatea intensificării dirijate a transferului medicamentelor prin piele.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

MATERIAL ȘI METODĂ

S-a testat acțiunea asupra tegumentului cutanat a 4 baze de unguent : gel cu polietilenglicoli, unguent hidrofil anionic, unguent hidrofil neionic și un hidrogel cu metilceluloză (tabelul I) în prezența a 7 vitamine : palmitat de vitamina A hidrosolubilă 2 000 000 U.I.%, vitamina B_1 0,5%, vitamina B_2 1%, vitamina B_6 2%, vitamina C 2%, vitamina D_3 600 000 U.I.% și vitamina PP 2%.

* Lucrarea a fost comunicată la Congresul național de farmacie, 4—6.VII.1973, București.

Pentru aprecierea cantitativă a modificărilor permeabilității cutanate, s-a urmărit transportul activ al ionilor de sodiu prin pielea de broască după metoda folosită de Ussing și Zehran (2,16) după aplicarea unguentelor cu vitamine (0,200 g) preparate în prezența și lipsa hialu-

Tabelul I

Structura bazelor de unguent utilizate pentru studiul permeabilității cutanate a vitaminelor

Denumirea ingredientelor	Baza de unguent			
	Nr. I	Nr. II	Nr. III	Nr. IV
Alc. cetylicum	—	—	25	—
Alc. cetylstearilicum	—	13,50	—	—
Aqua destillata	—	45	80	85
Glycerolum	—	40	—	10
Methylcelulosum	—	—	—	5
N. Laurylsulfuricum	—	1,50	—	—
Paraffinum liquidum	—	—	20	—
P.E.G. 4 000	22,50	—	—	—
P.E.G. 1 500	20	—	—	—
P.E.G. 400	57,50	—	—	—
Tween 80	—	—	10	—
Vaselinum	—	—	45	—

ronidazei (Hy) (30 U.I./0,200 g unguent), paralel cu baza de unguent ca atare și cu hialuronidaza.

Efectul unguentelor etalate pe suprafața pielii asupra modificării intensității curentului electric s-a urmărit din 10 în 10 minute, timp de 2 ore. Rezultatele sînt exprimate cantitativ în μEq Na^+ (tabelul II, fig 5), iar dinamica transportului activ al ionilor de Na^+ în procente este redată în figurile 1, 2, 3 și 4.

Tabelul II

Evaluarea cantitativă (μEq Na^+/l) a transportului activ al ionilor de sodiu după aplicarea unguentelor cu vitamine

Vitamine	Concentrația în vitamină a unguentului (%)	μEq/Na+/1/2 ore după aplicare							
		Gel de polietilenglicol		Unguent hidrofil anionic		Unguent hidrofil neionic		Unguent cu metilceluloză	
		U	H	U	H	U	H	U	H
A	2 milioane U.I.	37,44	15,98	9,05	2,16	14,99	3,0	15,92	16,04
B_1	0,5	32,93	18,57	7,33	0,93	16,82	0,64	7,89	10,30
B_2	1	25,53	14,27	22,72	0,52	20,31	2,10	8,68	10,23
B_6	2	41,55	30,65	21,24	1,39	26,64	4,20	4,89	5,38
C	2	28,19	17,68	32,91	2,97	14,67	1,40	13,32	9,85
D_3	600 000 U.I.	22,10	14,25	7,18	0,86	16,69	1,40	13,42	14,44
PP	2	31,60	9,62	28,72	0,83	13,28	1,0	17,40	11,72

U = unguentul; H = unguentul cu bialuronidază

DISCUȚIA REZULTATELOR

Rezultatele s-au interpretat prin aprecierea comparativă a efectului : a) unguentelor conținînd vitamine, preparate în prezența și lipsa hialuronidazei și a efectului b) haluronidazei asupra bazelor de unguent ca atare, considerînd că scăderea cantitativă a transportului activ de ioni de sodiu și a intensității curentului electric, fiind expresia unei participări metabolice intense, corespunde concomitent unei creșteri și a permeabilității cutanate.

Dacă se urmărește dinamica transportului activ al ionilor de sodiu prin tegument izolat, după aplicarea preparatelor dermice cu vitamine, se pot constata următoarele :

În interval de 2 ore, prin aplicarea *gelului de polietilenglicoli* cu cele 7 vitamine studiate, se remarcă efectul foarte marcat în creșterea transportului activ la baza de unguent ca atare și o oarecare scădere prin asocierea cu Hy. Valori foarte ridicate se remarcă în cazul asocierii cu vitaminele : A, B_6, B_2, PP și puțin mai coborîte în cazul vitaminelor C și B_1. Prin includerea Hy, se obțin scăderi semnificative față de gelul lipsit de Hy în cazul vitaminei A, B_2, C, B_6. Nu sînt diferențe semnificative în cazul vitaminei B_1, care în ambele asocieri coboară transportul activ. Efectul Hy este slab asupra vitaminelor PP și D_3 și egal la vitamina B_1 (fig. 1).

Deci gelul cu polietilenglicoli este eficace în asociere cu vitamina C și D_3 și adaosul de Hy este util în asociere cu vitamina A, B_6 și B_2. La majoritatea vitaminelor, adaosul Hy la gelul cu polietilenglicoli este vizibil, cel mai intens la vitamina A și B_2.

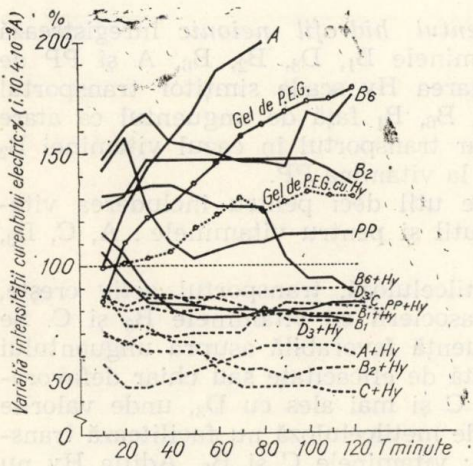


Fig. 1. — Dinamica transportului activ de Na^+ sub acțiunea gelului de polietilenglicoli cu vitamine.

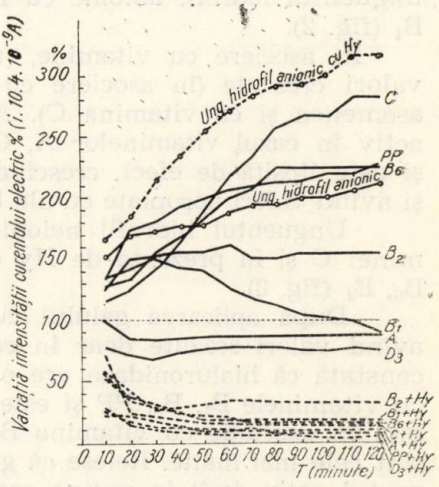


Fig. 2. — Dinamica transportului activ al Na^+ sub acțiunea unguentelor hidrofile anionice cu vitamine.

După aplicarea *unguentului hidrofil anionic* cu vitamine se obțin valori mai coborîte, comparativ cu adaosul de Hy, deci asupra bazei această enzimă este fără efect. În asociere cu vitamine, transportul activ crește considerabil în cazul vitaminelor C, B_6 și PP, rămîne constant

prin adaosul Hy la vitaminele A, D_3, B_2. Efectul pozitiv al Hy este evident în asocierile cu vitaminele C, B_6, B_2 și PP, deci în cazurile în care unguentul lipsit de enzimă a prezentat valori ridicate de asemenea asupra vitaminelor D_3, A și B_1. Se deduce din acesta că adăugarea Hy numai la baza hidrofilă anionică nu are efect, dar în prezența vitaminelor C, B_6, B_2 și PP este evident, precum și la D_3, A și B_1. Se recomandă

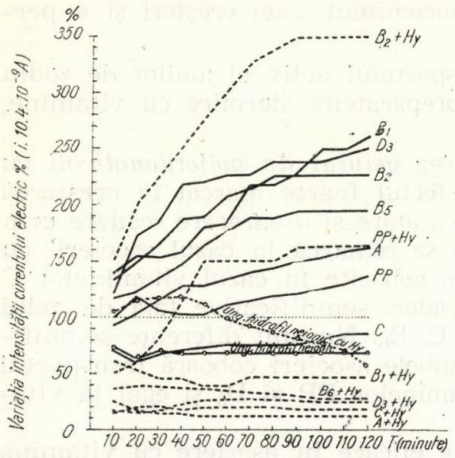


Fig. 3. — Dinamica transportului activ de Na^+ sub acțiunea unguentelor hidrofile neionice cu vitamine.

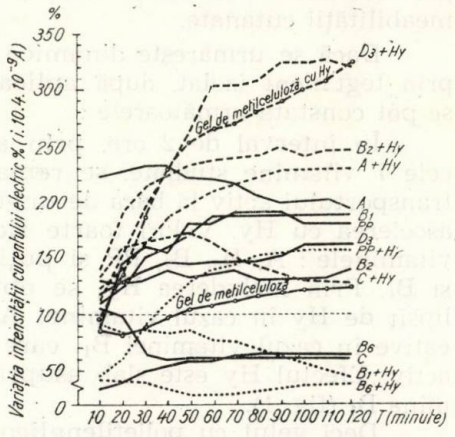


Fig. 4. — Dinamica transportului activ al Na^+ sub acțiunea gelului de metilceluloză cu vitamine.

unguentul hidrofil anionic cu Hy pentru vitamina C, B_6, B_2, PP, D_3 și B_1 (fig. 2).

În asociere cu vitamine, *unguentul hidrofil neionic* înregistrează valori crescute (în asociere cu vitaminele B_1, D_3, B_2, B_6, A și PP de asemenea și cu vitamina C). Adăugarea Hy scade simțitor transportul activ în cazul vitaminelor A, C, D_3, B_6, B_1 față de unguentul ca atare și este lipsită de efect, crescînd chiar transportul în cazul vitaminei B_2 și avînd valori apropiate cu ale bazei la vitamina PP.

Unguentul hidrofil neionic este util deci pentru includerea vitaminei C și în prezența de Hy este util și pentru vitaminele : A, C, D_3, B_6, B_1 (fig. 3).

După aplicarea gelului cu metilceluloză, transportul activ crește, avînd valori scăzute doar în cazul asocierii cu vitaminele B_6 și C. Se constată că hialuronidaza are o influență favorabilă asupra unguentului cu vitaminele B_1, B_6, PP și este lipsită de eficacitate sau chiar defavorabilă în asociație cu vitamina B_2, A, C și mai ales cu D_3, unde valorile sînt cele mai înalte. Reiese că gelul de metilceluloză nu facilitează transportul activ decît în puține asocieri : vitaminele C și B_6. Adiția Hy nu este favorabilă în majoritatea cazurilor, cu excepția vitaminelor : B_1, B_6 și PP (fig. 4).

Urmărind dinamica de transport se observă că valorile cele mai scăzute se obțin în asocieri cu geluri hidrofile, ionogene sau neionogene, mai reduse la geluri cu polietilenglicoli și fără influență pozitivă la gelul de metilceluloză, care datorită efectului filmogen stagnează fenomenele de schimb.

Dacă se examinează cantitativ trecerea ionilor de sodiu după aplicarea diferitelor geluri cu substanţele studiate, se pot constata următoarele :

— Aspectul cantitativ al pasajului sodiului după aplicarea diferitelor geluri cu vitamine arată că cel mai ridicat pasaj se produce la gelul cu polietilenglicoli, cu prioritate pentru vitaminele A, B_1, B_6, PP cel

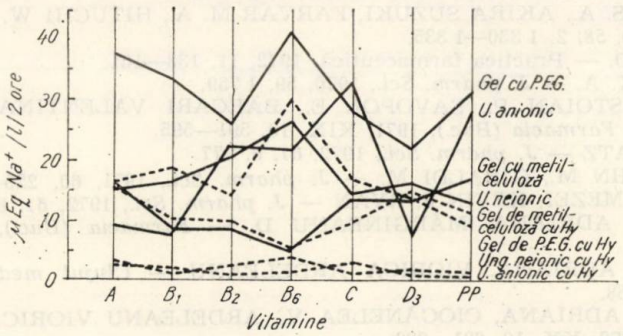


Fig. 5. — Evaluarea cantitativă (μEq Na^+/l) a transportului activ al ionilor de sodiu după aplicarea unguentelor cu vitamine.

mai pronunţat la B_6 şi egale la vitaminele B_2, C şi D_3. Unguentul hidrofil anionic se manifestă inconstant, reducînd cantitativ transportul la vitaminele A, B_1, D_3, dar urcă la valori sub cele ale gelului cu polietilenglicoli la vitaminele B_2, B_6, fiind foarte accentuat la vitamina C şi PP. Unguentul hidrofil neionic manifestă scăderi ale transportului ionilor de sodiu în mod aproape constant la toate vitaminele, mai accentuat la B_6, şi egal ca intensitate la celelalte. Gelul de metilceluloză prezintă valorile cele mai scăzute la vitaminele : A, B_1, B_2, B_6, cel mai accentuat şi se observă o uşoară creştere la vitaminele C, D_3 şi PP (fig. 5, tabelul II).

Adaosul de Hy la unguentele cu polietilenglicoli nu modifică mult, dar scad cantitativ ionii de sodiu la toate vitaminele şi mai accentuat la A şi PP. Rezultate foarte favorabile se obţin prin asocierea Hy la unguentele hidrofile, asociere care rămîne fără efect la gelul cu metilceluloză.

CONCLUZII

1. Gelurile hidrofile ionogene conţinînd hialuronidază se pot asocia cu vitaminele : A, B_1, B_2, B_6, C şi PP.

2. Adiţia hialuronidazei la gelurile neionogene este favorabilă vitaminelor B_1, C, D_3.

3. Gelul cu polietilenglicoli constituie o barieră în transferul cutanat, efect remediat în măsura pronunţată de adaosul enzimei la vitaminele B_2, C şi PP.

4. Adiţia hialuronidazei la gelul cu metilceluloză este defavorabilă vitaminei D_3, B_2, A şi C.

BIBLIOGRAFIE

1. ANELLO A. JUDITH, HERGARDT L. — *J. Pharm. Sci.*, 1969, *58*, 6, 721—724.
2. BURES J., PETRAN M., ZACHER J. — Electrophysiological Methods in Biological Research, Ed. Čs Academy of *Science*, ed. a II-a, Praga, 1962.
3. CASTLEDEN A., JENNIFER — *J. pharm. Sci.*, 1969, *58*, 2, 149—164.
4. COLDMAN M. F., POULSEN B. J., HIGUCHI T. — *J. pharm. Sci.*, 1969, *58*, 9, 1 098—1 102.
5. CREŢEANU GH., HĂULICĂ I., TOPOLICEANU F., RIEGLER B., PETRESCU C. — *Rev. med. chir.*, Iaşi, 1968, LXXII, 1, 91—96.
6. HOWARD S. A., AKIRA SUZUKI, FARVAR M. A., HITUCHI W. I. — *J. pharm. Sci.*, 1969, *58*, 2, 1 330—1 335.
7. HURDUC D. — Practica farmaceutică, 1972, 11, 133—161.
8. HERZOG K. A. — *J. pharm. Sci.*, 1970, 59, 1 759.
9. IONESCU STOIAN P., SAVOPOL E., BARCARI VALENTINA, DINCA DORINA — *Farmacia (Buc.)*, 1971, XIX, 10, 591—595.
10. JOEL L. ZATZ — *J. pharm. Sci.*, 1972, *61*, 6, 977.
11. MAYERSOHN M., GIBALDI M. — *J. pharm. Sci.*, 1971, 60, 225—230, 326—327.
12. MICHAEL MEZEI, KEVIN J. RYAN — *J. pharm. Sci.*, 1972, *61*, 8, 1 329.
13. POPOVICI ADRIANA, MĂRGINEANU D. — *Farmacia (Buc.)*, 1972, *XX*, 9, 567—574.
14. POPOVICI ADRIANA, VIORICA ARDELEANU — *Clujul med.*, 1971, XLIV, 3, 661—663.
15. POPOVICI ADRIANA, CIOCÂNELEA V., ARDELEANU VIORICA — *Farmacia (Buc.)*, 1972, XX, 10, 621—632.
16. POPOVICI ADRIANA — Contribuţii la studiul unor noi formule de penetraţie şi de resorbţie cu hormoni şi vitamine, Teză de doctorat, I.M.F. Cluj, 1969.
17. POPOVICI ADRIANA — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *XXI*, 8, 479—488.

Articol intrat în redacţie la 2.II.1974

Indicele de clasificare : 615.415.7

SUMMARY

Adriana Popovici — CHANGES IN CUTANEOUS PERMEABILITY AFTER THE APPLICATION OF DERMAL PRODUCTS. III. THE ACTION OF OINTMENTS WITH VITAMINS

A study was carried out on the transfer of Na^+ ions through the frog skin under the action of four ointments (polyethylenglycol gel, 2 hydrophil ointments and a methylcellulose gel), containing vitamins A, B_1, B_2, B_6, C, D_3 and PP in the presence and absence of hyaluronidase. Study of the dynamics of sodium transport and quantitative sodium determinations pointed to the penetrating potential of the ionogenic ointment bases, favourably influenced by the presence of hyaluronidase in association with vitamins A, complex B, C and PP.

Polyethylenglycol gel forms a barrier in cutaneous transfer and the addition of hyaluronidase gel with methylcellulose has an unfavourable effect upon vitamins D_3, B_2, A and C.

РЕЗЮМЕ

Адриана Попович — ИЗМЕНЕНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ КОЖИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОЖНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Авторы исследовали способность прохождения ионов Na^+ через кожу лягушки со стороны после действия четырех видов мазей (гель полиэтилен гликоля, 2 гидрофильные мази и гель метилцеллюлозы) содержащих витамины А, B_1, B_2, B_6, С, $Д_3$, РР а присутствии и отсутствии гиалуронидазы.

Исследую динамику проницаемости и после количественного определения натрия, авторы уточнили потенциал проницания ионогенных основ мазей, на которые благоприятно влияет наличие гиалуронидазы в сочетании с витаминами А, комплексом В, С и РР. Гель содержащий полиэтиленгликол представляет собой барьер при проникновении через кожу, а добавление гиалуронидазы к гелю содержащему метилцелюлозу, неблагоприятно для действия витаминова $Д_3$, B_2, А и С.

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Despre o monoglucozidă a emodinei din scoarța de Rhamnus frangula

M. Roșca, Viorica Cucu

Disciplina de farmacognozie, Facultatea de farmacie, Cluj-Napoca

REZUMAT *Presupunerea unor autori că în scoarța de* Rhamnus frangula L *ar exista și o monoglucozidă a emodinei a fost confirmată prin izolarea și identificarea (punct de topire, spectru în I.R., analiză elementară) a 1 sau 8 monoglucozidemodine.*

O combinație a emodinei cu glucoză a fost izolată deja în 1895 din scoarța rădăcinii de *Polygonum cuspidatum* de către Perkin (7), care a denumit-o cuspidatin. Substanța care se prezenta sub formă de ace galbene, având punctul de topire 202—203°.

În 1956 Schultz și Mayer (9) au izolat din frunzele de *Rheum undulatum* o glucozidă a emodinei ; caracterizînd-o prin punct de topire și spectru în I.R., au ajuns la concluzia că este 1 sau 8 monoglucozidemodina, obținută anterior de Mühlemann (6) pe cale de sinteză.

Aceeași glucozidă, identificată prin spectru în I.R. și U.V., a fost izolată apoi de Wagner, Hörhammer și Farkas (11) din rizomii și rădăcinile de *Rheum palmatum var. tanguticum* (cu p.p. 189—190°), iar de Hörhammer, Bittner și Hörhammer H.P. (3) din scoarța de *Rhamnus purshiana* (p.t. = 212°).

Încă în 1953, Danilovici (2), folosind metoda cromatografiei pe hîrtie, a semnalat în *cortex frangulae* alături de crisofanol, emodina, frangulină și glucofrangulină, un nou compus, considerat de autor a fi o combinație a emodinei cu glucoza.

Zece ani mai tîrziu, Sieper, Longo și Korte (10) au separat din același drog, prin cromatografie pe strat subțire, o glicozidă a emodinei, care prin hidroliză acidă s-a scindat în emodină și glucoză. Autorii n-au izolat glucozida, dar pe baza valorilor R_f și a coeficienților de extincție consideră că este vorba de o glicozidă asemănătoare frangulinei și care s-ar putea să fie glucozida semnalată de Danilovici (2).

Ceva mai tîrziu, în 1967, Hörhammer, Wagner, și Hörhammer H.P. (4) au găsit în spectrul pe strat subțire al extractului metanolic de *Cortex frangulae* un spot cu fluorescență roșie, pe care-l atribuie emodinglucozidei semnalate de Danilovici (2).

Pentru izolarea acestui compus am plecat de la un total de glicozide extrase din scoarțe de *Rhamnus frangula* (1), care prezintă un spectru cromatografic pe strat subțire, similar cu acela dat de Hörhammer și colab. (3).

Totalul de glicozide a fost trecut pe o coloană de silicogel, folosind ca eluent butanol saturat cu apă. S-au recoltat cinci fracțiuni. Fracțiunea a patra a prezentat cromatografic patru spoturi : unul cu fluorescență roșie, două cu fluorescență portocalie, corespunzătoare glucofrangulinelor A și B, și un spot cu fluorescență verde-albăstruie, corespunzător unei glicozide a 1,8-dihidroxi-2-acetonaftonei. Această frac-

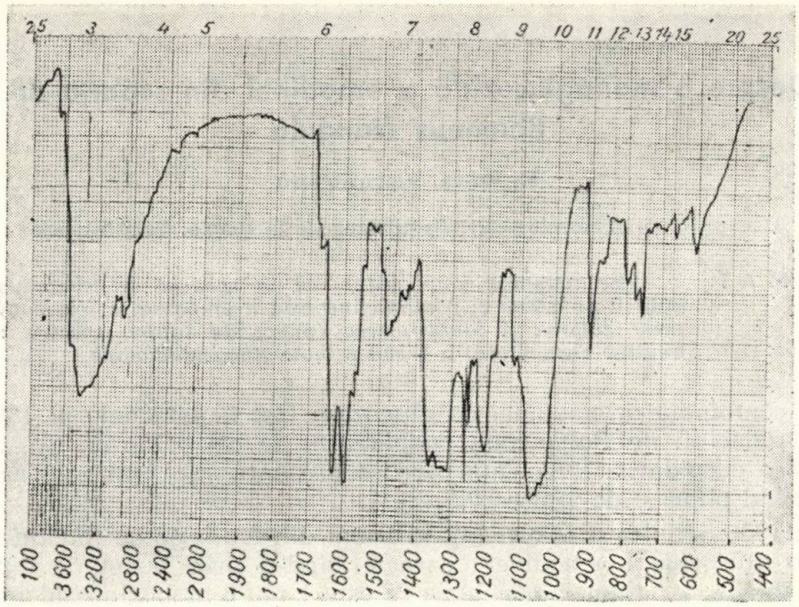


Fig. 1

țiune a fost din nou trecută pe o coloană de silicogel, eluent fiind de data aceasta amestecul de acetat de etil : metanol : apă (100 : 16, 5 : 13,5). S-au recoltat cinci fracțiuni. Compusul cu fluorescență roșie a trecut în prima fracțiune. Această fracțiune a fost concentrată la sec sub presiune redusă, iar precipitatul depus a fost cristalizat din metanol. Punctul de topire a fost de 200—202° (Boetius).

Substanța izolată se prezintă sub formă de ace galbene, solubile în etanol, metanol, acetonă, insolubile în apă, eter etilic, cloroform.

Agliconul obținut prin hidroliză acidă a fost identificat prin cromatografie cu substanță certă de referință, ca fiind emodină. În soluția apoasă rămasă după hidroliza acidă s-a identificat cromatografic glucoza.

Analiza elementară a demonstrat că substanța izolată conține o singură moleculă de glucoză.

Pentru stabilirea legăturii glicozidice la una din cele trei grupări hidroxilice din pozițiile 1,8 sau 6, s-a comparat spectrul în I.R. al glucozidei izolate cu spectrul în I.R. al agliconului (5) și spectrul în I.R. al 1 sau 8 monoglucozidemodinei (3, 9, 11).

Banda de la 1 670 cm^{-1}, prezentă în toate trei spectrele, corespunde vibrației de valență C=0. Banda puternică de la 1 620 cm^{-1}, din spectrul agliconului, care se atribuie vibrației de valență a ambelor

grupări C=0 (9), este scindată în spectrul glucozidei, banda de la 1 635 cm^{-1} fiind atribuită vibrației de valență C=0 chelată (11), iar cea de la 1 600 cm^{-1}, vibrației de valență C=C (11). Prin urmare, restul glucidic trebuie să fie legat la o grupare OH învecinată grupării C=0 (9).

Spectrul în I.R. fiind identic cu cel al 1 sau 8 monoglucozidemodinei, izolate din rizomii și rădăcinile de *Rheum palmatum var. tanguticum* (11), frunzele de *Rheum undulatum* (9) și din scoarța de *Rhamnus purshiana* (3), substanța izolată de noi din scoarța de *Rhamnus frangula* este 1 sau 8 monoglucozidemodina.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

1. *Izolarea 1 sau 8 monoglucozidemodinei prin cromatografie pe coloană*

S-au utilizat coloane de 50 cm înălțime și 4 cm diametru. Adsorbant : silicagel Merck (0,05—0,2 mm) ; 200 g silicagel s-au introdus în coloană cu butanol saturat cu apă (n-butanol : apă ; 6 : 3).

Un gram total de glicozide din *cortex Frangulae* s-a suspendat în circa 5 ml metanol și s-a amestecat cu circa 2—3 g silicagel. După evaporarea solventului, amestecul s-a introdus deasupra coloanei. Eluarea s-a făcut cu butanol saturat cu apă. S-au colectat 200—220 de fracțiuni a câte 5 ml. Cromatografierea pe strat subțire a permis gruparea lor în cinci fracțiuni. Fracțiunea a patra, incluzînd compusul urmărit, a fost concentrată la sec sub presiune redusă, obținîndu-se un reziduu pulverulent de culoare galbenă. El a fost suspendat în metanol la rece și amestecat cu 1—2 g silicagel. După evaporarea solventului s-a introdus pe o coloană de 100 g silicagel și s-a eluat cu acetat de etil : metanol : apă (100 : 16, 5 : 13, 5). S-au recoltat 170 de fracțiuni a câte 5 ml, care au fost cromatografiate pe strat subțire și grupate în cinci fracțiuni. Prima fracțiune, conținînd numai glicozida urmărită a fost concentrată la sec sub presiune redusă. Precipitatul depus a fost cristalizat de două ori din metanol (p.t. 200—202°). Pentru $C_{21}H_{20}O_{10} + 1/2H_2O$ (441,39). Calculat : C 57,14% ; H 4,80% ; găsit : C 57,65% ; H 5,20%.

2. *Cromatografia pe strat subțire*

Pentru cinci plăci cu dimensiunea de 10 × 15 cm s-au folsit 10 g silicagel G, Merck și 20 ml apă. Eluent : acetat de etil : metanol : apă (100 : 16,5 : 13,5). Distanța de migrare : 10 cm. Timpul de migrare : 30 de minute.

3. *Hidroliza glucozidei izolate*

Aproximativ 0,0001 g substanță s-a menținut la reflux cu 1 ml HCl 10% timp de o oră. După răcire, soluția apoasă a fost extrasă cu cloroform. Soluția cloroformică după uscare pe sulfat de sodiu sicc. a servit la cromatografia pe hîrtie alături de emodină. Soluția apoasă rămasă după extracția cloroformică s-a folosit pentru identificarea glucidei.

4. *Cromatografia pe hîrtie*

a) *Pentru aglicon* : hîrtie Whatman 1. Eluent : alcool etilic 78 vol.%. Distanța de migrare : 10 cm. Timpul de migrare : 3 ore. Revelator : NaOH 10% sau Na_2CO_3 5%.

b) *Pentru glucide :* hîrtie Whatman 1. Eluent : butanol : acid acetic : apă (4 : 1 : 5). Distanţa de migrare : 15 cm. Timpul de migrare : 8 ore. Revelator : anilină ftalică.

5. *Spectrul în I.R.*

A fost efectuat cu un aparat Ir-27G-Shimadzu, în domeniul de undă 4 000—400 cm^{-1}, prin pastilare în KBr.

CONCLUZII

Din scoarţa de *Rhamnus frangula* s-a izolat 1 sau 8 monoglucozidemodina, identificată prin spectrul în I.R. şi analiza elementară.

BIBLIOGRAFIE

1. CUCU V., TARPO E. — *Pharmazie*, 1959, *6*, 316.
2. DANILOVICI M. — *Acta pharm. jugosl.*, 1953, *2—3*, 219.
3. HÖRHAMMER L., BITTNER G., HÖRHAMMER H. P. — *Naturwissenschaften*, 1964, *13*, 310.
4. HÖRHAMMER L., WAGNER H., HÖRHAMMER H. P. — *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 1967, *107*, 17, 563.
5. IMRE S. — Teză de doctorat, München, 1962.
6. MÜHLEMANN H. — *Pharm. Acta Helv.*, 1949, *24*, 315.
7. PERKIN A. G. — *Chem. News.*, 1895, *72*, 278, 6/12 ; *Ciba Z.*, 1896, I, 208.
8. ROŞCA M., CUCU V. — *Farmacia (Buc.)*, 11, 695, 1972.
9. SCHULTZ O. E., MAYER G. — *Arzneimittel-Forsch.*, 1956, *6*, 334.
10. SIEPER H., LONGO R., KORTE F. — *Arch. Pharm.*, 1963, *296*, 403.
11. WAGNER H., HÖRHAMMER L., FARKAS L. — *Z. Naturforsch.*, 1963, 18 b *(1)*, 89.

Articol intrat în redacţie la : 24.XII.1973

Indicele de clasificare : 615.761.3 : 615.32 Rhamnus frangula

SUMMARY

M. Roşca, Viorica Cucu — ON AN EMODIN MONOGLUCOSIDE FROM THE BARK OF RHAMNUS FRANGULA

The assumption of some authors that an emodin monoglucoside exists in the bark of *Rhamnus frangula* L was confirmed by the isolation and identification (melting point, spectrum in infra red light, elementary analysis) of 1 or 8 emodin monoglucosides.

РЕЗЮМЕ

М. Рошка, Виорика Куку — СОДЕРЖАНИЕ МОНОГЛЮКОЗИДА ЭМОДИНА В КОРЕ КРУШИНЫ RHAMNUS FRANGULA

Предположение некоторых авторов, что в коре Rhamns frangula L. существует моноглюкозид эмодина было подтверждено выделением и идентификацией (температура плавления, спектр И. К., элементарный анализ), 1 или 8 моноглюкозида эмодина.

FARMACIA
Vol. XXIII, nr. 2, anul 1975

Dismetabolii protidice sanguine și modificări histocariologie induse la șobolan de razele X. Efectul radioprotector al unor compuși tiolici

Nota I : Radioprotecția la șoareci cu un nou preparat tiolic comparativ cu cisteina

V. Cojocaru

Catedra de biochimie, Facultatea de pediatrie, București

Cercetările privind protecția biologică împotriva acțiunii radiațiilor ionizante ocupă în cadrul radiobiologiei un loc din cele mai însemnate. Interesul este suscitat : 1) de pericolul potențial care-l prezintă pentru viața organismelor poluarea mediului înconjurător cu reziduuri radioactive provenite din activitatea diverselor ramuri ale științei și economiei care utilizează energia atomică ; 2) de faptul că în medicina modernă radioinvestigația și radioterapia, procedee curente adesea cu beneficii maxime, sînt totuși arme cu două tăișuri și prezintă riscul vătămării organismului mai mult sau mai puțin întîrziat și accentuat (4, 18, 19). De aceea au atras atenția cercetătorilor și asupra modalităților și mijloacelor de prevenire, diminuare și anulare a acestui risc. În acest sens este unanim admis efectul radioprotector al substanțelor cu sulf în moleculă (—SH— sau —S—S—) în special a cisteinei, cisteaminei și derivaților acestora (2, 5, 10). De asemenea, esența și scopul radioprotecției biologice ar fi diminuarea leziunilor morfo-funcționale radioinduse ale sistemului hematopoietic și ale aparatului genetic celular, fundamentală prelungirii supraviețuirii animalelor iradiate (26).

Concepțiile actuale privind radioprotecția converg spre utilizarea de preparate complexe, bazate pe asocieri de substanțe, care pot interveni prin însumarea mecanismelor lor de acțiune în procesul de restaurare biologică a organismelor iradiate (2).

Aceste considerente au constituit premisele orientării prezentei lucrări în acest domeniu, axată în prima etapă pe stabilirea efectului — eventual radioprotector — al unui preparat elaborat de autor pe bază de acid tiazolidin carboxilic (substanță cu potențial de a elibera în organism grupări — SH active) (11, 15, 17), în asociere cu acid ascorbic și acid folic. Evaluarea eficienței radioprotectoare a preparatului propriu s-a făcut prin comparație cu efectul radioprotector al cisteinei, radioprotector clasic de referință. Pentru stabilirea și evaluarea efectului radioprotector la scară biologică s-au cercetat : evoluția stării generale și a greutății corporale ; curba letalității și a timpului mediu de supraviețuire al animalelor decedate. Evaluarea radioprotecției la nivel celular

hematopoietic s-a făcut prin cercetarea : dinamicii hemoglobinei sanguine, dinamicii coloniilor endogene de hemocitoblaşti splenici, dinamicii indicelui mitotic în măduva hematoformatoare şi examenul histologic al splinei.

MATERIAL ŞI METODĂ

Pentru experienţe s-au utilizat şoareci albi masculi izogeni în greutate de cca. 22 g împărţiţi în patru loturi a cîte 20 : 1) martor normal ; 2) martor iradiat ; 3) iradiat şi protejat cu A ; 4) iradiat şi protejat cu B. Preparatul propriu notat cu litera B a conţinut : cisteină clorhidrică 5,0 g ; folat de sodiu 0,05 g ; acid ascorbic 2,5 g ; bicarbonat de sodiu 1,125 g ; hexametilen-tetramina 1,0 g ; sulfit de sodiu 0,12 g ; apă bidistilată ad 100 ml. Preparatul de referinţă notat cu litera A a conţinut : cisteină clorhidrică 5,0 g, sulfit de sodiu 0,12 g, apă bidistilată ad 100 ml. Sterilizarea soluţiilor s-a făcut prin tindalizare. pH-ul soluţiei injectate A = 3,5 iar a soluţiei injectate = 5,8. Administrarea soluţiilor injectabile A şi B s-a făcut intraperitoneal cu 14—17 minute înainte de iradiere în cantitatea de 0,1 ml din fiecare preparat per şoarece. Şoarecii au fost iradiaţi total cu o doză unică de 600 R folosind un aparat Röentgen-Liliput 200 system Varga cu factorii : 150 KV, 4,5 mA, filtru 0,5 mm Cu + 1 mm Al, distanţa focus 27 cm, debit 40 l/minut. Mortalitatea a fost urmărită timp de 15 zile după iradiere, timp în care toate animalele au fost ţinute la dietă comună de vivariu. Pe alte patru loturi a cîte 10 şoareci (distribuite ca mai sus, s-a determinat în a 6-a zi după iradiere la cîte 5 animale din fiecare lot următorii parametri : hemoglobina sanguină prin metoda colorimetrică Sahli (12) ; numărul coloniilor endogene de hemocitoblaşti de pe faţa parietală a splinei (macroscopic) : după sacrificarea şoarecilor prin exsanguinare totală, splina prelevată în întregime a fost introdusă pentru 48 de ore în fixator Dubosque-Brazil şi apoi, pentru minimum 24 de ore în alcool etilic de 96° (8). Coloniile apărute sub formă de proeminenţe mamelonare de culoare galben-deschis au fost numărate macroscopic. Splina astfel prelucrată a servit şi pentru examenul histologic (25). La celelalte 5 animale din fiecare lot s-a determinat indicele mitotic folosind măduva femurală hematogenă recoltată şi tratată după procedeul Wiener (27).

Prelucrarea statistică a rezultatelor : calcularea semnificaţiei statistice, la rezultatele privind dinamica hemoglobinei şi a coloniilor de hemocitoblaşti, s-a făcut prin testul Student (24) ; la rezultatele privind mortalitatea şi indicele mitotic s-a făcut prin metoda de măsurare a erorii medii pentru frecvenţele relative cu răspuns unic exprimat procentual (13) ; semnificaţia statistică pentru timpul mediu de supravieţuire s-a calculat după formula lui P. Mureşan (14).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Evoluţia stării generale

La doza de 600 R se constată o alterare precoce a stării generale de sănătate, care evoluează în timp astfel : de la prima pînă la a treia zi după iradiere, toate animalele au prezentat adinamie, anorexie şi cifozare ; între a 4-a şi a 6-a zi după iradiere sindromul intestinal a devenit evident, cu diaree hemoragică accentuată ; starea generală s-a alterat

progresiv fără tendinţă de ameliorare sau stagnare pînă la moartea animalelor. Animalele protejate cu A şi B au prezentat în egală măsură o simptomatologie identică cu a celor neprotejate dar mai redusă ca intensitate şi cu debut mai întîrziat.

DINAMICA GREUTĂŢII CORPORALE

Evoluţia stării generale de sănătate se reflectă şi în dinamica greutăţii corporale (graficul din fig. 1) care la lotul II marchează o scădere progresivă faţă de greutatea iniţială cu 19% după 5 zile, 21,5% după 10 zile şi 27,7% după 15 zile. Greutatea medie corporală a animalelor din lotul III este după 5 zile de la iradiere cu 10,8% mai mică decît greutatea iniţială, cu 17,3% după 10 zile şi 18,3% după 15 zile. În lotul IV animalele au prezentat o scădere mult mai mică a greutăţii medii corporale faţă de greutatea iniţială, fiind după 5 zile cu 6,3% mai mică, cu 16,5% după 10 zile, menţinîndu-se la această valoare pînă în ziua a 15-a.

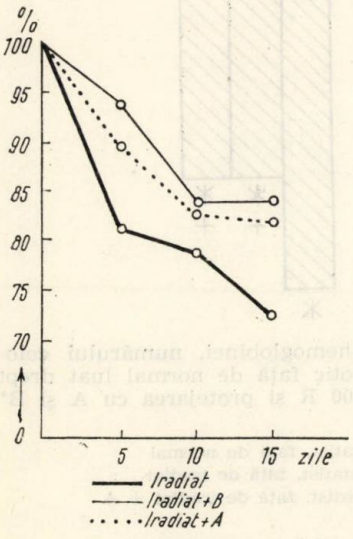


Fig. 1

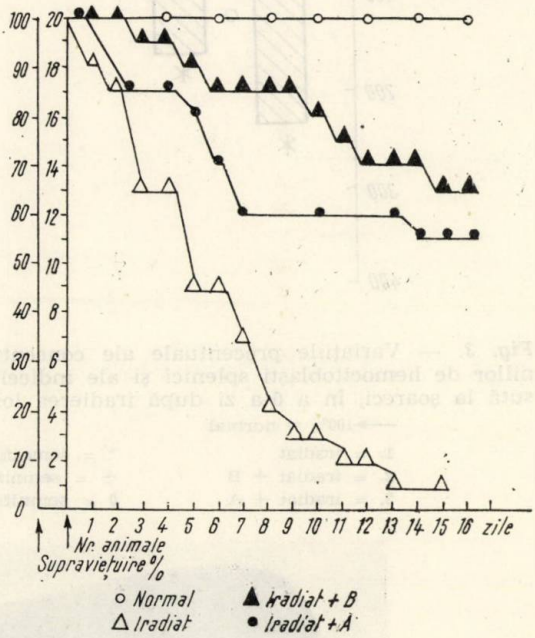


Fig. 2 ⟶

Fig. 1. — Dinamica greutăţii medii corporale la şoarecii iradiaţi, iradiaţi şi protejaţi (în procente faţă de greutatea iniţială luată drept sută).

Fig. 2. — Curba letalităţii şoarecilor iradiaţi cu 600 R şi protejaţi cu A şi B.

Menţinerea greutăţii medii corporale a animalelor protejate cu A şi B mai apropiată de greutatea iniţială decît la animalele neprotejate devine semnificativă statistic din ziua a 5-a după iradiere şi protecţie. Între greutăţile medii corporale ale animalelor protejate cu A şi B, diferenţele nu sînt semnificative statistic decît în ziua a 5-a după iradiere, cînd greutatea medie corporală a animalelor protejate cu B este mai apropiată de greutatea medie iniţială decît a celor protejate cu A.

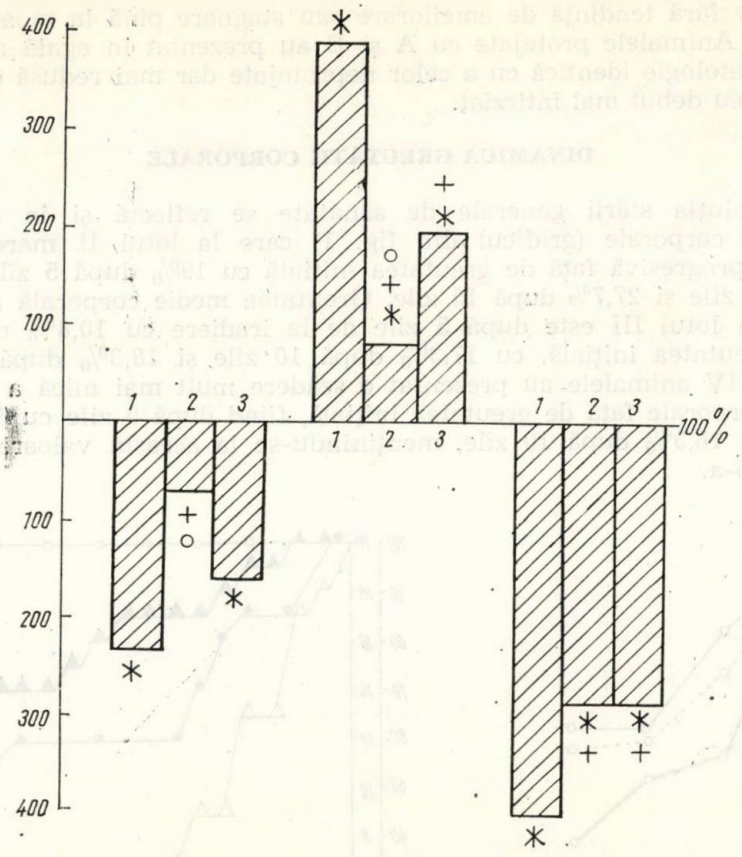


Fig. 3. — Variaţiile procentuale ale concentraţiei hemoglobinei, numărului coloniilor de hemocitoblaşti splenici şi ale indicelui mitotic faţă de normal luat drept sută la şoareci, în a 6-a zi după iradierea lor cu 600 R şi protejarea cu A şi B*

→100% = normal

1. = iradiat
2. = iradiat + B
3. = iradiat + A

* = semnificativ statist. faţă de normal
\+ = semnificativ statist. faţă de iradiat
0 = semnificativ statist. faţă de iradiat + A

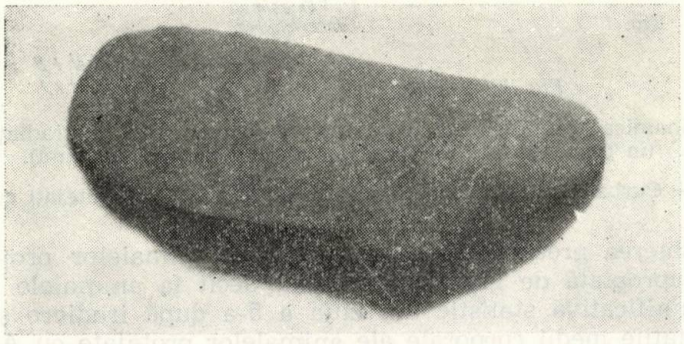


Fig. 4. — Normal

* Mulţumiri cu recunoştinţă dr. Mihai Izvoranu (I.M.F. Bucureşti) pentru indicaţiile tehnice şi colaborare în problemele de genetică.

Aspectul macroscopic al splinei şoarecilor în a 6-a zi după iradierea lor cu 600 R şi protejarea cu A şi B

Pe suprafaţa parietală a splinei se observă prezenţa diferenţiată ca număr în funcţie de lotul experimental al coloniilor de hemocitoblaşti *.

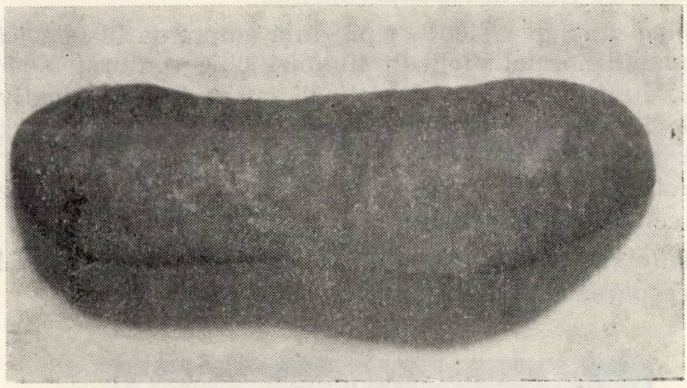


Fig. 5. — Iradiat

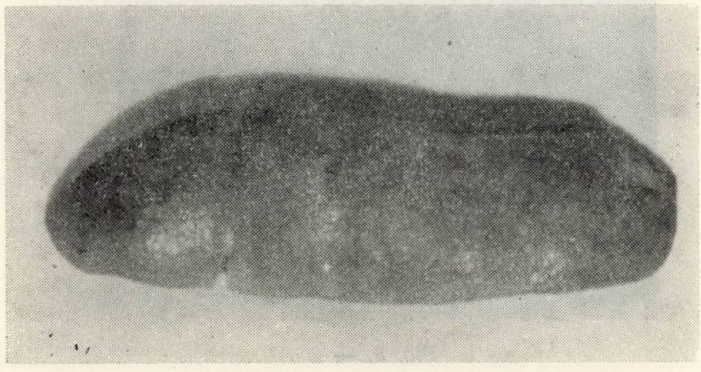


Fig. 6. — Iradiat + a

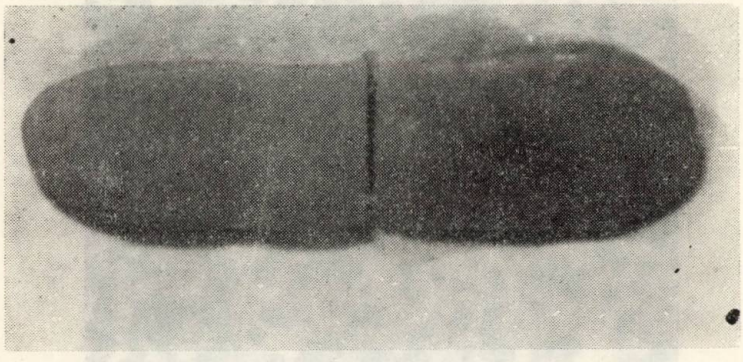


Fig. 7. — Iradiat + b

* Mulţumiri cu recunoştinţă dr. Nicolae Ionescu (I.M.F. Bucureşti) pentru indicaţiile tehnice şi colaborare în problemele de histologie.

Examenul histologic al splinei şoarecilor în a 6-a zi după iradierea lor cu 600 R şi protejarea cu A şi B

Examinarea microscopică a secţiunilor de splină relevă importante modificări radioinduse în structura parenchimului splenic faţă de normal, caracteristice fiecărui lot experimental.

Imaginea din fig. 8 (400 ×) prezintă amprenta histologică a parenchimului splenic normal : foliculi limfoizi bine conturaţi şi individualizaţi ; reacţie limfocitară intensă (foliculi cu centru germinativ — proliferare limfocitară —) ; în pulpa roşie se observă discrete formaţiuni celulare bazofile (hemocitoblaşti) ; se remarcă prezenţa megacariocitelor şi megacarioblaştilor (din seria trombocitară) ; capsula net vizibilă, fără aglomerări celulare subcapsulare.

Imaginile din fig. 9, 10, 11, 12 prezintă elementele histologice caracteristice parenchimului splenic de la martorul iradiat.

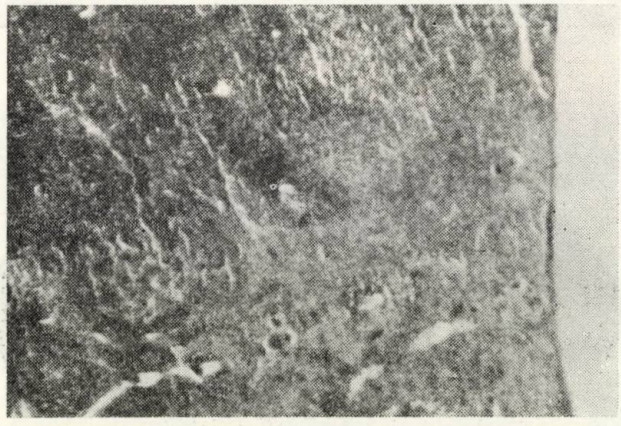


Fig. 8. —

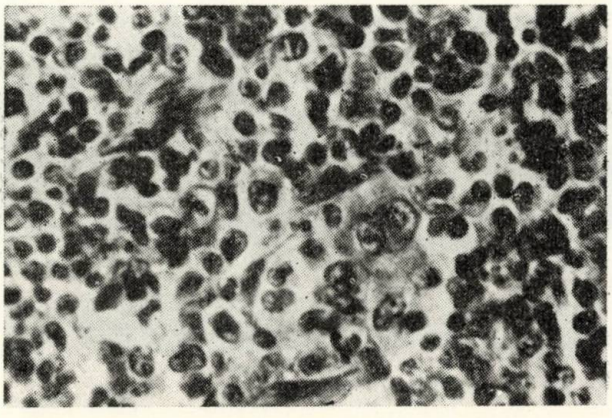


Fig. 9. — În populaţia celulară se remarcă elemente celulare care par a fi hemocitoblaşti (600×).

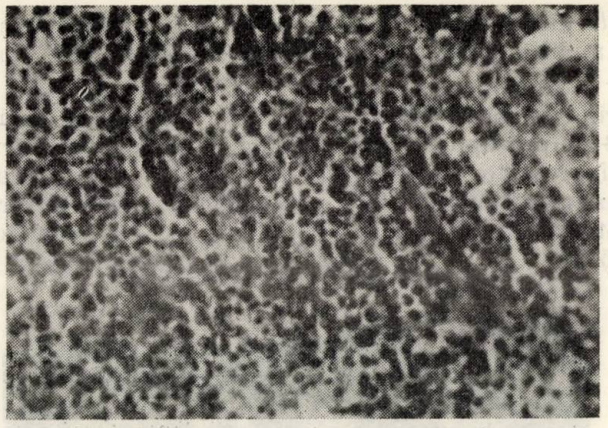


Fig. 10. — Hiperemie şi zone fine de necroză în jurul vaselor şi în pulpa roşie în apropierea foliculilor limpezi (400 ×).

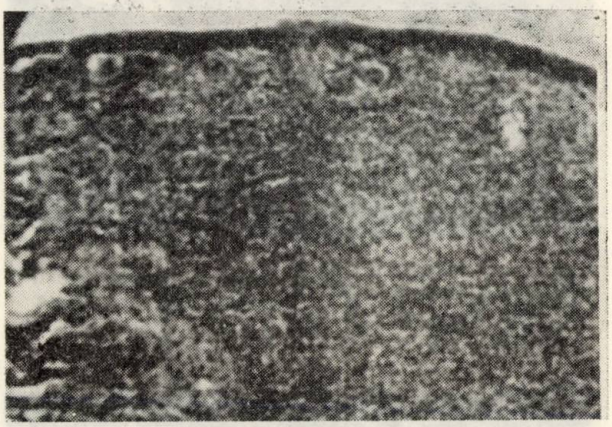


Fig. 11. — Sub capsulă se observă aglomerări celulare bazofile care iau aspect insular (hemocitoblaşti); se remarcă prezenţa megacarioblaştilor (200 ×).

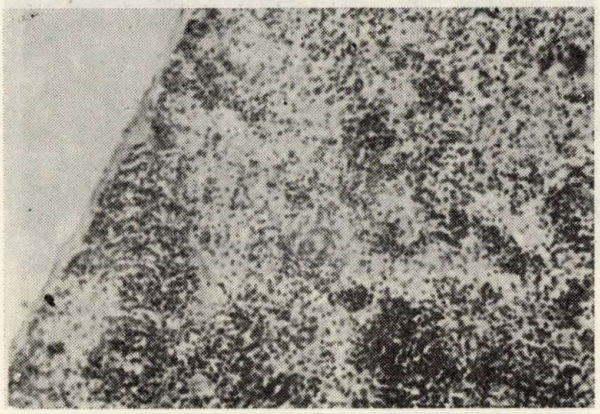


Fig. 12. — Se observă hipertrofia şi hiperplazia foliculilor limfoizi (200 ×).

Imaginile din fig. 13 și 14 provin de la loturile iradiate și protejate cu A și B : modificările histologice caracteristice sînt comune ambelor preparate.

Comparînd curba letalității (graficul din fig. 2) lotului iradiat și protejat cu B — presupus radioprotector — cu a lotului iradiat și protejat cu A (radioprotector de referință) se constată că preparatul B exercită efect radioprotector exprimat prin procentul de supraviețuire mult crescut față de al lotului neprotejat (P = 99,75%) și superior lotului protejat cu A (P = 95%).

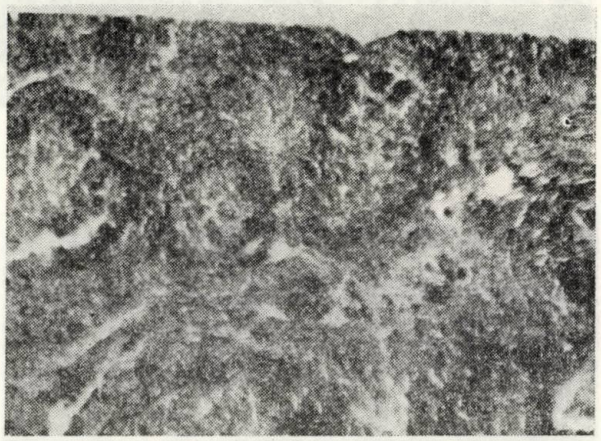


Fig. 13 — Foliculii limfoizi tind să ia aspect normal (mărimi variabile, fără zone infiltrative) ; hiperemia este prezentă dar de intensitate și pe arii mai reduse decît la martorul iradiat (200 ×).

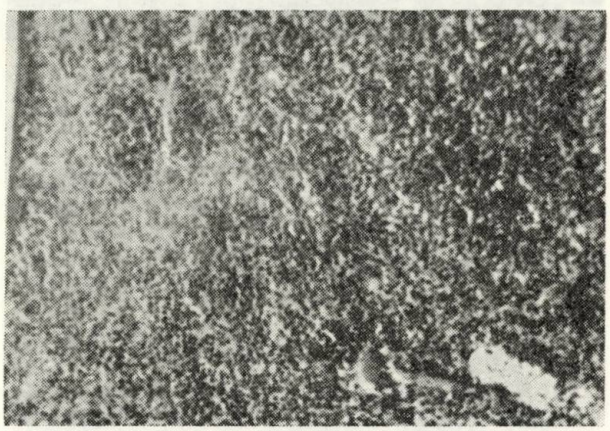


Fig. 14. — Formațiunile insulare (hemocitoblaști) sînt mai reduse ca număr și volum, mai izolate, bine individualizate, cu tendință de dispersare mai mult în pulpa roșie decît subcapsular ; megacarioblaști prezenți. Parenchimul splenic al animalelor protejate cu A și B prezintă în general un aspect histologic mixt, intermediar cu elemente caracteristice normalului și între normal și iradiat (200 ×).

Superioritatea radioprotectoare a preparatului B cu 10% față de preparatul A iese mai mult în evidență dacă se analizează evoluția zilnică a mortalității (graficul din fig. 2) și a timpului mediu de supraviețuire al animalelor decedate (tabelul I). Între lotul martor iradiat și loturile protejate cu A și B diferențele de supraviețuire sînt constant semnificative din ziua a 3-a de la expunere la radiații și intens semnificative statistic începînd din ziua a 7-a ($0,01>P>0,001$). Între loturile tratate cu A și B se constată o supraviețuire mai mare a animalelor din lotul protejat cu B începînd din ziua a 5-a de la iradiere. Aceste trei loturi se deosebesc între ele și din punct de vedere al evoluției mortalității : în timp ce mortalitatea animalelor iradiate începe din prima zi după iradiere, în lotul iradiat și protejat cu A începe din ziua a 2-a, iar în cel protejat cu B din ziua a 3-a. Această evoluție în timp a mor-

Tabelul I

Mortalitatea (%), supraviețuirea (%), timpul mediu de supraviețuire al animalelor decedate (zile) în a 15-a zi după iradierea șoarecilor cu 600 R și protejarea cu A și B

Lot	Decese	Supraviețuire	Timp mediu de supraviețuire
I	0,0	100,0	15,0
II	95,0	5,0 ±0,3	5,8
III	45,0	55,0 ±2,4	10,8
IV	35,0	65,0 ±2,3	12,5

talității se reflectă mai evident în diferențele privind timpul mediu de supraviețuire al animalelor care au murit și care este de 6 zile pentru animalele iradiate fără protecție, 10,8 zile pentru protecția oferită prin A și 12,5 zile pentru protecția prin B. Procentul de supraviețuire obținut prin protecția șoarecilor cu A (cisteină) este apropiat de cel găsit în condiții experimentale similare de alți cercetători (3).

DISCUȚII

Creșterea procentului de supraviețuire al animalelor iradiate și protejate cu B față de cele protejate cu A se poate interpreta ca fiind efectul pe plan biologic al interferenței a două mecanisme fundamentale de acțiune a substanțelor prezente în preparatul B și anume :

1. captarea (neutralizarea) radicalilor liberi oxidanți rezultați din radioliza apei din țesuturi cu participarea cisteinei și acidului ascorbic conform mecanismului unanim admis de radioprotecție prin substanțe —SH (2, 9) ;

2. stimularea proceselor reparatorii și de creștere a rezistenței organismului, determinate de prezența acidului folic și ascorbic în preparat.

În sprijinul celei de a doua ipoteze vin rezultatele expuse în graficul din fig. 3 din care rezultă că administrarea preparatului B înaintea iradierii, are un efect protector hematopoietic exprimat prin menținerea semnificativ statistică (ss) a concentrației hemoglobinei, procentului colo-

niilor endogene de hemocitoblaşti splenici şi a indicelui mitotic la valori apropiate de normal.

Menţinerea structurii parenchimului splenic la aspecte mai apropiate de normal la şoarecii iradiaţi şi protejaţi cu A şi B, dovedeşte că ambele preparate exercită o acţiune de protecţie împotriva acţiunii distructive a radiaţiilor ionizante în doză letală asupra acestui organ hematopoietic şi că favorizează pe această cale supravieţuirea animalelor iradiate.

Modalitatea de acţiune a preparatelor este greu de precizat în baza datelor noastre, dar se poate afirma că este în legătură cu mecanismele, care asigură o desfăşurare normală a sintezei proteice în organism. Indicaţii în acest sens sînt oferite de rezultatele noastre privind activitatea mitotică în măduva hematoformatoare, dependentă de sinteza şi degradarea normală a materialului genetic — ADN-ul cromozomial — fundamental pentru reproducerea materiei vii. Faptul că la animalele iradiate şi protejate valoarea indicelui mitotic este mai apropiată (ss) de normal decît la cele neprotejate, arată posibilitatea intervenţiei substanţelor —SH în mecanismele care dirijează sinteza şi degradarea acizilor nucleici, şi prin aceasta la sinteza proteică, diviziunea celulară şi refacerea la scară tisulară. Normalizarea indicelui mitotic la animalele radioprotejate cu A şi B este în acord cu lucrările lui R. Rondanelli (1962) referitoare la rolul protector al substanţelor tiolice (cieteină, glutation) împotriva acţiunii inhibante a razelor X asupra formării fibrei fusului în mitoză (7).

Menţinerea semnificativă statistic a parametrilor hematopoiezii cercetaţi (hemoglobina, indicele mitotic, numărul coloniilor splenice de hemocitoblaşti, aspectul histologic al splinei) la valori normale sau apropiate de normal în condiţiile iradierii şi protecţiei cu A şi B, atestă faptul că ambele preparate cu sulf exercită un efect de diminuare a inhibării radioinduse a hematopoiezii. Acest efect pare a fi deosebit de important dacă avem în vedere că la dozele de iradiere care provoacă de regulă moartea, ponderea principală o are tocmai inhibarea hematopoiezei (26).

Alterarea radioindusă a parenchimului splenic evidenţiată prin cercetarea microscopică a secţiunilor de splină, este expresia pe plan morfologic a profundelor perturbări radioinduse în desfăşurarea şi conexiunea normală a proceselor metabolice esenţiale la nivel celular — molecular — în special a metabolismului substanţelor proteice. Unele aspecte ale acestor perturbări metabolice formează obiectul unor publicaţii viitoare.

Printre modificările histologice radioinduse în parenchimul splenic, aglomerările celulare bazofile subcapsulare sub forme insulare şi confluate în colonii observabile şi macroscopic (colonii de hemocitoblaşti), confirmă păstrarea capacităţii de reproducere a hemocitoblaştilor splenici după iradiere, semnalată şi de Certkov (citat de 6) în tendinţa acestora de a suplini procesul similar al măduvei osoase hematogene, mult inhibat de radiaţii.

Aspectele de hiperemie splenică observate microscopic în secţiunile de splină provenite de la şoarecii iradiaţi, pot fi în legătură printre altele cu accentuarea funcţiei splenice de sechestrare a hematiilor cu forme, dimensiuni şi plasticităţi modificate faţă de normal prin iradiere. Modificarea plasticităţii normale a eritrocitului, de maximă importanţă pentru străbaterea complexului dispozitiv de filtrare splenică, ar avea

la bază după Atanasiu (1971), deshidratarea hematiilor consecutivă diminuării concentrației potasiului intraglobular în cursul procesului de îmbătrînire. Cum radiațiile scad potențialul energetic al eritrocitului (conținutul în ATP) și perturbă transportul activ al potasiului între spațiul extra- și intraglobular, se poate admite că fenomenul de hiperemie splenică are printre cauze, acumularea hematiilor cu plasticitate redusă prin schimbarea profilului lor electrolitic printr-un mecanism analog celui din cursul îmbătrînirii : deshidratarea. Accentuarea radioindusă a acestei funcții splenice de sechestrare a hematiilor cu anomalii morfologice și îndeosebi cu plasticitate redusă, permanent cuplată cu hemoliza acestora, este evidențiată și de scăderea concentrației hemoglobinei constatată de noi la șoarecii iradiați, și este în concordanță și cu diminuarea numărului hematiilor caracteristică anemiei hemolitice și aplastice din boala de iradiere, menționată în literatură (19—23).

În afara acestui mecanism de sechestrare și eritroliză care ar contribui la scăderea concentrației hemoglobinei la șoarecii iradiați, este posibil ca însăși funcția de sinteză a hemoglobinei la nivelul splinei să fie inhibată prin iradiere. Se știe în prezent că rolul splinei în sinteza hemoglobinei este aproape tot atît de important ca și în distrugerea ei. Cercetări cu atomi marcați au demonstrat în acest sens că parenchimul splenic (la animale) poate sintetiza atît hemul cît și globina, și că raportat la gram de țesut, splina sintetizează o cantitate dublă de hem față de măduva osoasă și aproape în egală măsură cu aceasta, globina (1).

Zonele necrotice ale parenchimului splenic evidențiate de noi la șoarecii iradiați, ar fi un argument în sprijinul scăderii concentrației hemoglobinei din sîngele acestora prin distrugerea parțială a țesutului splenic hemoglobinoformator.

Procesele de dezorganizare a structurii parenchimului splenic prin iradiere la care ne-am referit, ne permit să presupunem că se enumeră și printre cauzele scăderii capacității de apărare a organismului iradiat, în care intervenția splinei prin elaborarea anticorpilor circulanți, este destul de însemnată (1).

CONCLUZII

1. Preparatul elaborat B prezintă efect radioprotector concretizat pe plan biologic în a 15-a zi după iradierea șoarecilor cu o doză unică de 600 R, în procentul de 65% supraviețuire.

2. Eficiența radioprotectoare a preparatului B este în privința procentului de supraviețuire cu 10% superioară semnificativ statistic preparatului A (radioprotector de referință).

3. La nivel celular — metabolic — preparatul B exercită efect radioprotector asupra țesuturilor hematopoietice exprimat prin menținerea concentrației hemoglobinei sanguine, a numărului coloniilor endogene de hemocitoblaști splenici și a indicelui mitotic din măduva osoasă femurală la valori apropiate semnificativ statistic de normal, în a 6-a zi după iradierea și protecția șoarecilor.

4. Eficiența radioprotectoare a preparatului B asupra dinamicii hemoglobinei și a coloniilor endogene de hemocitoblaști splenici este superioară semnificativ statistic preparatului A și egală cu a acestuia asupra dinamicii indicelui mitotic și a aspectului histologic al parenchimului splenic.

BIBLIOGRAFIE

1. ATANASIU A. — Hipersplenismul, Ed. medicală, Bucureşti, 1971, p. 25.
2. BACQ Z. M. — Chemical Protection against Ionizing Radiation, Editor Charles T. Thomas, Ed. Springfield, Ilinois, S.U.A. 1965, p. 328.
3. BACQ Z. M., LIEBECQ C. — Effects metaboliques de quelque radioprotecteurs, Ed. Masson, Paris, 1965.
4. BRESLAVET L. P. — *Rev. An. Rom.-Sov. Biol.*, 1958, *2*, 97.
5. BUCHANAN J. M., HARTMAN S. C. — *Adv. in Enzymol.*, 1959, *21*, 199.
6. CERTKOV I. L., FRIDENSTEIN A. I. — *Usp. Sovrem. Biol.*, 1966, *62*, 4, 97—174.
7. COSTA G., RONDANELLI R. — *Rev. Stomat.*, 1962, *63*, 1, 2, 87.
8. DIACONIŢĂ G. şi colab. — Tehnica histopatologică, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 1953, 56.
9. ELDJARN L., PIHL A. — Mecanisms in Radiobiology, Academic Press, New York, 1960, vol 11, 231.
10. GORODEŢKI A. A., KIRICINSKI B. R., LIPAN N. F. — Probleme de Radiobiologie, 1962 (traducere din l. rusă, C.D.M., Bucureşti).
11. MACKENZIE G. C., HARRIS JO. — *J. Biol. Chem.*, 1957, *227*, 393.
12. * * * — Metodele laboratorului clinic, Ed. medicală, Bucureşti, 1964, 2 904.
13. MUREŞAN P. — Metode matematice în clinică, laboratoare şi ocrotirea sănătăţii, Ed. medicală, Bucureşti, 1963, 42.
14. MUREŞAN P. — Idem, p. 114.
15. OERIU S., OERIU I. — The VII-th International Congress of Gerontology, Viena, 1967, Biology and Clinical Medicine Proceeding, *2*, 143.
16. OERIU S., THIGHECIU M. — *Gerontologia*, 1964 *9*, 7.
17. OERIU S. şi colab. — *Stud. Cercet. Fiziol.*, 1970, *2*, 107—118.
18. PIZON P. — *Presse méd.*, 1958, *28*, 633, *29*, 647.
19. * * * — Radiobiologia, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 1970, 205.
20. * * * — Radiobiologia, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 1970, 288.
21. * * * — Radiobiologia, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 1970, 132.
22. * * * — Radiobiologia, Ed. Ştiinţifică, Bucureşti, 1970, 332.
23. ROXIN T., TUDOSIU I., NECULA V. — Radioterapia funcţională şi antiinflamatorie, Ed. medicală, Bucureşti, 1964, 35.
24. SĂHLEANU V. — Metode matematice în cercetarea medico-biologică, Ed. medicală, Bucureşti, 1957.

25. TARUSOV N. B. — Bazele acțiunii biologice a substanțelor radioactive, Ed. Medghiz, Moscova, Ed. medicală, București, 1956, traducere din l. rusă.

26. TKADLECEK L., IURAȘCOVA V., DOSTAL M., ZAHVEI I. — *Rev. sanit. milit.*, 1965, număr special, p. 385.

27. WIENER E. — *Rev. Med. (Tg. Mureș)*, 1964, *2*, 175.

Articol intrat în redacție la 4.X.1973.

Indicele de clasificare : 614.8 : 539.16

CONTENTS

Page

Original Works. Experimental Investigations

P. Marcu, I. Grecu — *Thin Layer Chromatographic Study of Chlordiazepoxide, Diazepam and Nitrazepam Using Cr Anionic Complexes (III)* 65

J. Máthé, G. Rácz — *Study of the Homogenicity of Mucilage in Hibiscus trionum (Malvaceae) Leaves* 73

D. Bedeleanu, Cornelia Bâcleşanu, Zoe Anca, Magdalena Fărăgău — *Investigations on the Biochemical Action of Some Drugs. II. The Method of Organ Perfusion (Heart) for Appraising the Effect of Oral Antidiabetic Drugs (Daonil, Tolbutamide)* 79

L. Roman, Rodica Crăciuneanu, Eugenia Florean, Iulia Pitea, Lucia Chiorean — *New Methods for the Determination of Acenocoumarol (Thrombostop)* 89

Vasilica Antonescu — *The Capacity of Some Solvents to Extract Strychnine* 97

Adriana Popovici — *Changes in Cutaneous Permeability after the Application of Dermal Products. III. The Action of Ointments with Vitamins* . . . 105

M. Roşca, Viorica Cucu — *On an Emodin Monoglucoside from the Bark of Rhamnus frangula* 111

V. Cojocaru — *Blood Protein Dysmetabolism and Histocardiologic Alterations Induced in the Rat by X-rays. The Radioprotective Effect of Some Thiol Compounds. Note I. Radioprotection in Mice with a New Thiol Product in Comparison to Cysteine* 115

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Оригинальные работы. Экспериментальные исследования

П. Марку, И. Греку — *Тонкослойное хроматографическое исследование хлордиазепоксида, диазепама и нитразепама с применением амониакальных комплексов Cr. Сообщение III* 65

Ж. Мате, Г. Рачь — *Исследование гомогенности слизи содержащейся в листьях Hibiscus trionum (Malvaceae)* 73

Д. Беделяну, Корнелия Быклешану, Зое Анка, Магдалена Фэрэгэу — *Исследования по вопросу биохимического действия лекарственных препаратов. Сообщение II. Метод перфузии органов (сердца) при оценке действия перорально-вводимых антидиабетических препаратов (Даонил, Толбутамид)* . 79

Л. Роман, Родика Крэчуняну, Еуджения Флорян, Юлия Питя, Лучия Киоран— *Новые методы количественного определения аценокумарола (тромбостоп)* 89

Василика Антонеску — *Способность некоторых растворителей к извлечению стрихнина* 97

Адриана Попович — *Изменение проницаемости кожи после применения кожных препаратов. Сообщение III. Действие мазей содержащих витамины* . . 105

М. Рошка, Виорика Куку — *Моноглюкозид эмодина в коре Rhamnus frangula* . . 111

В. Кожокару — *Протидные дисметаболии крови и гистокардиологические изменения, вызываетмые у крыс х-лучами. Рентгенозащитное действие некоторых тиоловых производных. Сообщение I. Рентгенозащитное действие в отношении мышей, оказываемое новым тиоловым препаратом по сравнению с цистеином* 115

SUMAR

Pag.

Lucrări originale. Cercetări experimentale

P. Marcu, I. Grecu — *Studiul cromatografic în strat subțire al clordiazepoxidului, diazepamului și nitruzepamului, folosind complecși anionici ai Cr (III)* 65

J. Máthé, G. Rácz — *Studiul omogenității mucilagului din frunzele de Hibiscus trionum (Malvaceae)* 73

D. Bedeleanu, Cornelia Bâcleșeanu, Zoe Anca, Magdalena Fărăgău — *Cercetări asupra acțiunilor biochimice ale medicamentelor. II. Metoda perfuziei de organe (inimă) în aprecierea efectelor medicamentelor antidiabetice orale (Daonil, Tolbutamidă)* 79

L. Roman, Rodica Crăciuneanu, Eugenia Florean, Iulia Pitea, Lucia Chiorean *Noi metode de dozare a Acenocumarolului (Trombostop)* 89

Vasilica Antonescu — *Capacitatea de extracție a unor solvenți asupra stricninei* 97

Adriana Popovici — *Modificarea permeabilității cutanate după aplicarea preparatelor dermice. Nota III. Acțiunea unguentelor cu vitamine* 105

M. Roșca, Viorica Cucu — *Despre o monoglucozidă a emodinei din scoarța de Rhamnus frangula* 111

V. Cojocaru — *Dismetabolii protidice sanguine și modificări histocariologice induse la șobolan de razele X. Efectul radioprotector al unor compuși tiolici. Nota I. Radioprotecția la șoareci cu un nou preparat tiolic comparativ cu cisteina* 115

Referate

1975 OKT 23

„Taxele poștale achitate conform aprobării D.G.P.Tc. Nr. 137/5736/1974"

EDITURA MEDICALĂ

I. P. „Informația" — c. 259

41 500

Lei 6

E2159

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

R
REFERALIVA

Farmacia

REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

COLEGIUL DE REDACȚIE:

Redactor responsabil: prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct: prof. V. STĂNESCU
Secretari de redacție: farm. VASILICA ANTONESCU
conf. ST. TĂMĂȘDAN

MEMBRI:

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEȘAN (Cluj-Napoca), farm. ANA BERECHET, prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iași), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iași), conf. Z. FIRȘIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, conf. D. MONCIU, conf. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, conf. D. OȚELEANU, conf. I. POPA, farm. NICULINA POPA, farm. V. POPOVICI (Timișoara), conf. E. PUȘCARU, conf. N. ȚUCHEL, farm. R. VASILIEV

3

IULIE — SEPTEMBRIE 1975

CONTENTS

Original Works

Page

Gh. Morait, Laurenţia Petroniu, Silvia Creangă, Crina Popa — *The Use of Heteropolyacids in Drug Analysis. V. Study of the Products of the Reaction between Napoton and Heteropolyacids* 129

V. Arieşan, Zenaida Cojocaru, Doina Ghiran, Elena Chindriş, Fl. Gagiu, C. Nistor, Al. Cacoveanu — *Investigations on Some N-Substituted Amides of the Phenoxyacetic Acid Series* 135

Matilda Rosetti, Denisa E. Mihele — *Investigations on the Influence of Certain Substances with a Pyridin Nucleus on Urease Activity* 141

Camelia Ghimicescu, Maria Stan, V. Dorneanu — *Colorimetric Determination of Aminophenazone in Different Pharmaceutical Forms* 147

Honorius Popescu — *Aetheroleum Thymi Produced in Romania* 153

Doina Albulescu, Madelena Palade, Maria Dafincescu — *Contributions to the Study of Coumarin Derivatives from Levisticum officinale Koch* . 159

Lucia Grecu, Viorica Cucu — *On Primulic Acid Aglycon from the Root of Primula officinalis* 167

Eliza Ghiuru — *Comparative Histoanatomy of the Rumex L. Species I. The Limb* 171

H. Rothbächer, L. Oprei, L. Dinu, C. Iftimie, I. Czellecz — *The Chemical Study of Ether Oil Obtained from Picea Excelsa Resin* 179

Nadejda Pîslăraşu, Cecilia Mircea — *Contributions to the Pharmacognostic Study of Rhus typhina L. Flowers and Fruit* 183

From the Activity of the USSM

Reports

MŰSZAKI KÖNYVTÁRÉS DOKUMENTÁCIÓS KÖZPONT 1833

MEDICAMENTE CHIMIOTERAPICE DE UZ PEDIATRIC, CU ADMINISTRARE ORALĂ, INDUSTRIALIZATE DE „BIOFARM"

Dr. V. CRISTESCU I. M. Biofarm

În multitudinea aspectelor pe care le ridică cercetarea şi industrializarea medicamentelor, domeniul patologiei pediatrice ocupă un loc important. Procesele de transformare pe care le suferă substanţele medicamentoase în organism pot prezenta diferenţe importante între adulţi şi copii, între nou-născut şi copilul mare, în sensul că intervin anumiţi factori : insuficienta legare proteică, distribuţia diferită a medicamentului în organismul copilului faţă de adult, eliminarea renală mai redusă.

Apariţia de substanţe noi, cu activitate crescută, posibilitatea vindecării unor afecţiuni — incurabile pînă la urmă cu cîţiva ani — sînt expresia importanţei din ce în ce mai mare pe care o capătă medicamentul în progresul medical general. De aceea se întreprind astăzi eforturi şi în direcţia unei cunoaşteri cît mai exacte a modului de acţiune a noilor medicamente în domeniul afecţiunilor pediatrice, în scopul obţinerii unei eficienţe maxime cu un minim de efecte nedorite.

Ţinînd seama de incidenţa crescută a accidentelor terapeutice, ca urmare a utilizării inadecvate a substanţelor medicamentoase, considerăm utilă prezentarea cîtorva aspecte care ni s-au părut mai importante, legate de preparatele de uz pediatric industrializate de „Biofarm" Bucureşti în ultimul an.

Sulfametin suspensie are indicaţii clinice numeroase, comparabile doar cu cele ale Tetraciclinei : infecţii ale căilor urinare şi ale rinichilor, infecţii respiratorii, infecţii otorinolaringologice, infecţii intestinale şi hepatobiliare, infecţii meningiene, infecţii cutanate. Toleranţa bolnavilor la Sulfametin suspensie este foarte bună, lipsind riscul cumulării (prezent la sulfamidele clasice), cît şi absenţa aproape totală a fenomenelor toxice. Preparatul se administrează într-o singură doză la 24 de ore.

Doza iniţială este de 30 mg/kilocorp (produsul este însoţit de o linguriţă marcată pentru dozele de 125—250 mg (Sulfametin) iar cea de întreţinere este de 10 mg/kilocorp. În timpul tratamentului se va mări aportul de lichide (lapte, ceai). Medicamentul fiind condiţionat într-o formă cu gust agreabil este uşor primit de copii. Se atrage atenţia să se evite administrarea lui la nou-născuţi şi la sugari în primele 3 luni de viaţă, cît şi asocierea cu tetraciclină, deoarece există un antagonism între aceste substanţe. La bolnavii cu hipersensibilitate la sulfamide, Sulfametin suspensie este contraindicat.

Acid nalidixic suspensie, datorită concentraţiei sale, ridicate din ţesutul renal şi din urină, este un preparat deosebit de util în infecţiile urinare. Datorită administrării uşoare este indicat în special la copii mici şi la preşcolari.

Schematic, posologia — raportată la greutatea copilului — este următoarea :

— Copii de 5 kg — cîte 1/4 de linguriţă marcată la 6 ore.

— Copii de 10 kg — cîte 1/2 de linguriţă marcată la 6 ore.

— Copii de 15 kg — cîte 3/4 de linguriţă marcată la 6 ore.

— Copii de 20 kg — cîte 1 linguriţă marcată la 6 ore.

Durata tratamentului este în funcție de gradul infecției și va fi stabilit de către medic. Dacă, în mod excepțional, se continuă pe o durată mai mare de 2 săptămîni, se impune efectuarea probelor funcționale renale și hepatice, deoarece, în caz de terapie prelungită, pot apărea efecte nedorite, ca : manifestări gastrointestinale, alergice, cutanate de fotosensibilizare, articulare. Însă, efectul nedorit cel mai grav îl constituie hipertensiunea intracraniană care poate apare după un tratament îndelungat cu acest preparat. Riscul orbirii pe care orice edem papilar prelungit îl poate produce, justifică propunerea de a supraveghea sistematic fundul de ochi în cazul unui tratament prelungit.

Metaboliții acestui preparat pot determina o reacție pentru glucoză fals pozitivă dacă se utilizează reactivul Benedict sau Fehling (din cauza interacțiunii substanței cu n-dinitrobenzen se pot obține valori incorecte de 17-cetosteroizilor urinari). In această situație se recomandă testul Porter-Stilber.

Preparatul nu va fi administrat asociat cu Nitrofurantoin, deoarece aceasta din urmă acționează antagonist. Copii cu epilepsie pot prezenta după doze mari fenomene convulsionante sau psihoze toxice.

Mexaform P, produs comercializat în colaborare cu CIBA este indicat în infecțiile intestinale, împiedicînd multiplicarea germenilor microbieni, a agenților micotici și a protozoarelor parazite. De asemenea, este folosit ca reconstituant al florei intestinale normale, cît și pentru prevenirea unor tulburări intestinale datorită schimbărilor de regim sau de climat. Avînd în vedere că tratamentul prelungit și în doze mari cu Chinoleină (substanță activă ce intră în compoziția Mexaformului P) poate duce la apariția maladiei SMON, manifestată prin tulburări neurologice (parestezii, ataxie, deficit motor, nevrită optică), durata lui nu trebuie să depășească 4 săptămîni, iar doza pe zi să nu fie mai mare de 750 mg. Ținînd cont de toate acestea, doza zilnică uzuală a preparatului Mexaform P este de 5 picături/kilocorp. Înainte de întrebuințare, flaconul trebuie agitat energic, apoi răsturnat cu vîrful în jos și apăsat ușor pentru expulzarea suspensiei picătură cu picătură.

În încheiere, atragem atenția că folosirea nerațională a acestor medicamente la copii, fără a consulta în prealabil medicul pediatru, în loc să ducă la vindecarea bolii, o complică. În schimb, administrarea lor corectă face ca aceste preparate farmaceutice să constituie o armă eficace și sigură în terapia antiinfecțioasă.

BIBLIOGRAFIE

1. **Balș M. G., Duminică Al., Bărbulescu E.** — Utilizarea Mexaformului în tulburări acute de tranzit intestinal, Produse farmaceutice, 1971, 73—75
2. * * * — Produits pharmaceutiques CIBA — I n d e x, 1974, 90—93
3. **Duminică Al.** — Sulfametin, studiu clinic și de laborator, Produse farmaceutice, 1970, 53—55
4. **Cristescu V.** — Prospect Sulfametin, I. M. Biofarm, 1975
5. **Maiorescu M., Manolescu M.** și colab. — Edem cerebral la sugarii tratați cu acid malidixic, A VI-a Sesiune științifică a Academiei de Științe Medicale, ianuarie 1975, București
6. **Cristescu V.** — Prospect Acid Nalidixic, I. M. Biofarm, 1975

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

Redacția : București, str. Progresului nr. 8. Sectorul VII — Telefon 13.89.73

VOLUMUL XXIII IULIE 3 SEPTEMBRIE 1975

LUCRĂRI ORIGINALE

Folosirea heteropoliacizilor în analiza medicamentelor

V. Studiul produșilor de reacție dintre napoton și heteropoliacizi

Gh. Morait, Laurenția Petroniu, Silvia Creangă, Crina Popa

REZUMAT

Se face un studiu asupra reacției dintre napoton și heteropoliacizi (acidul silicowolframic și acidul fosfowolframic), în vederea stabilirii de noi metode de dozare a acestei substanțe. S-au stabilit condițiile de precipitare cantitativă, s-a determinat comportarea termică atît a napotonului-substanță, cît și a silicowolframatului și fosfowolframatului de napoton, stabilindu-se astfel, regimul termic în care precipitatele prezintă o masă constantă. S-au determinat spectrele i.r. ale precipitatelor, stabilindu-se că heteropoliacizii formează cu napotonul protonat compuși de tip sare.

Deși au trecut 76 de ani de la folosirea acidului silicowolframic (1) pentru determinarea gravimetrică a alcaloizilor și a altor baze organice și deși numărul lucrărilor publicate privind folosirea heteropoliacizilor în analiza chimică și fizico-chimică a unor substanțe organice este mare (2—19), întrebuințarea acestor reactivi este încă actuală.

Unul din noi a folosit aceste substanțe reactive la determinarea alcaloizilor printr-o metodă indirectă acido-bazică în mediu neapos (20). Pornind de la observația că funcția acidă a unei substanțe este exaltată prin dizolvarea ei într-un mediu protofilic, s-au instituit noi metode de dozare volumetrică a numeroși alcaloizi.

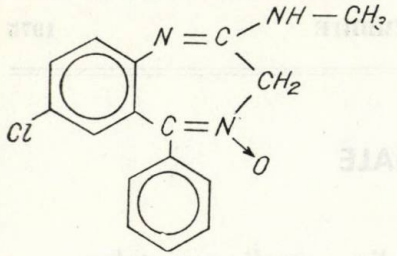
Această metodă prezintă și avantajul că poate fi generalizată și la alte substanțe cu funcție bazică, care pot precipita cu heteropoliacizii, pretîndu-se totodată la determinarea cantităților mici de substanță, ceea ce este cazul adeseori în analiza farmaceutică. De asemenea prezintă și avantajul înlăturării unor operații care ar lungi timpul necesar efectuării dozării.

Urmărind să extindem această metodă și la determinarea altor substanțe, am luat în studiu reacția de precipitare a napotonului cu

heteropoliacizii. Am găsit necesar ca pentru fundamentarea cît mai riguroasă a metodelor de analiză să întreprindem un studiu complex asupra reacţiilor de precipitare şi a produşilor de reacţie.

În acest sens s-au determinat condiţiile optime de precipitare, comportarea termică a precipitatelor efectuîndu-se analize termice (curbele de termoliză, termodiferenţiale) şi s-au efectuat spectrele i.r. în vederea clarificării unor elemente de structură a acestor precipitate.

Napotonul (clordiazepoxydum, librium, metaminodiazepoxid, 7-clor-2-metilamino-5-fenil-3H-benzo-1,4-diazepin-4-oxid) este unul din cele mai întrebuinţate tranchilizante minore. El posedă proprietăţi psihosedative anxiolitice, efecte miorelaxante şi anticonvulsivante.



Indicaţiile clinice ale napotonului, cuprind o sferă foarte largă de acţiune, care aparţin psihiatriei, neurologiei, medicinei interne, ginecologiei, traumatologiei, ortopediei etc.

Prezenţa în molecula napotonului a atomilor de azot, dintre care doi cu dublete electronice neparticipante, conferă funcţie bazică acestei substanţe. Atomul de azot aminic secundar determină bazicitatea cea mai accentuată, precum şi numeroase proprietăţi analitice dintre care şi capacitatea de protonare şi reacţie cu diferiţi reactivi anionici cu volum mare. De altfel cele mai multe metode de analiză a acestei substanţe, se bazează pe caracterele imprimate de acest atom de azot (21—23).

În cercetările noastre am folosit capacitatea de precipitare în mediu acid a acestei substanţe cu acizii silicowolframic şi fosfowolframic.

Precipitatele obţinute ca şi napotonul au fost analizate termic, folosind un derivatograf — J. Paulik, F. Paulik, L. Erdey Mom — Budapesta.

În figurile 1, 2 şi 3 se prezintă termogramele (curbele T.G., G.T.D. şi A.T.D.) în funcţie de temperatură, la o scară de temperatură de 1 200°C, temperatura crescînd cu 10°/minut.

Curba de termoliză a napotonului, luîndu-se în lucru 0,1004 g, arată că substanţa îşi menţine greutatea aproape constantă pînă la 280°C, cînd începe o oxidare puternică ; la 540°C începe o a doua oxidare, proces exoterm, substanţa volatilizîndu-se complet la 840°C.

Pentru obţinerea precipitatului de silicowolframat de napoton s-a procedat astfel : probe de 0,1—0,2 g napoton se dizolvă în 20—30 ml apă, se adaugă 10 ml acid clorhidric diluat, se încălzeşte la 70—80°C şi se aduce sub agitare soluţia de heteropoliacid 10% (se poate folosi şi soluţia 3%) pînă la precipitare completă. Se filtrează printr-un creuzet filtrant G_4, se usucă în exicator de vid la greutate constantă.

Curba de termoliză (fig. 2) arată un palier orizontal pînă la 60°C, cînd începe să piardă apa treptat pînă la 150°C apoi se obţine un palier orizontal pînă la 210°C şi din nou pierde din masă pînă la 290°C, printr-un proces endoterm. Între 290—392°C apare din nou o greutate constantă. De la 540°C are loc un proces exoterm cu descompunere. La 840°C se obţine un palier orizontal pînă la 930°C, corespunzător unor oxizi metalici ficşi (SiO_2W, WO_3).

Pentru obținerea fosfowolframatului de napoton s-a procedat asemănător ca la silicowolframat, curba de termoliză prezentînd o comportare asemănătoare (fig. 3).

Pînă la ~ 60°C greutatea precipitatului este constantă, după care precipitatul pierde apă. La 340°C are loc un proces de oxidare exotermă,

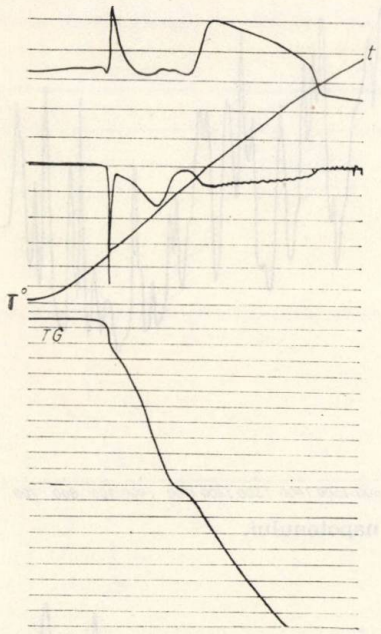


Fig. 1

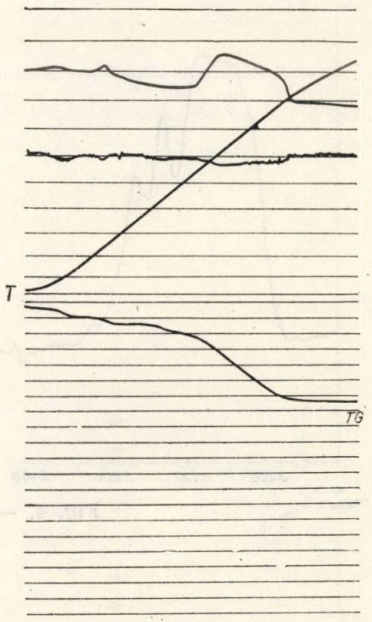


Fig. 2

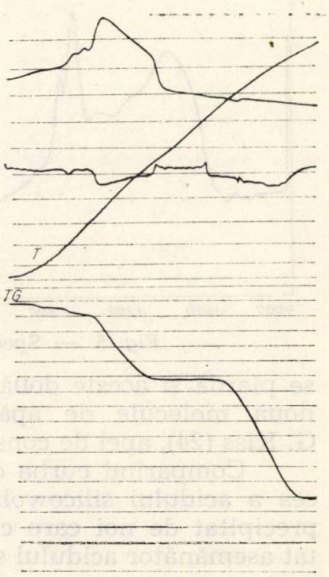


Fig. 1. — Curba de termoliză a napotonului.

Fig. 2. — Curba de termoliză a silicotungitotului de napoton.

Fig. 3. — Curba de termoliză a fosfowolframatului de napoton. ⟶

cu o variație mai accentuată a masei pînă la 560°C, cînd greutatea rămîne constantă, pentru ca apoi din nou să scadă.

Din curba de termoliză a acidului silicowolframic se constată că între 80—120°C se pierde cea mai mare cantitate de apă, transformîndu-se în $SiO_2 \cdot 12\ WO_3 \cdot 8\ H_2O$, iar între 180—260°C se mai pierd încă 6 molecule de apă ($SiO_2 \cdot 12\ WO_3 \cdot 2\ H_2O$), pentru ca între 400—520°C să

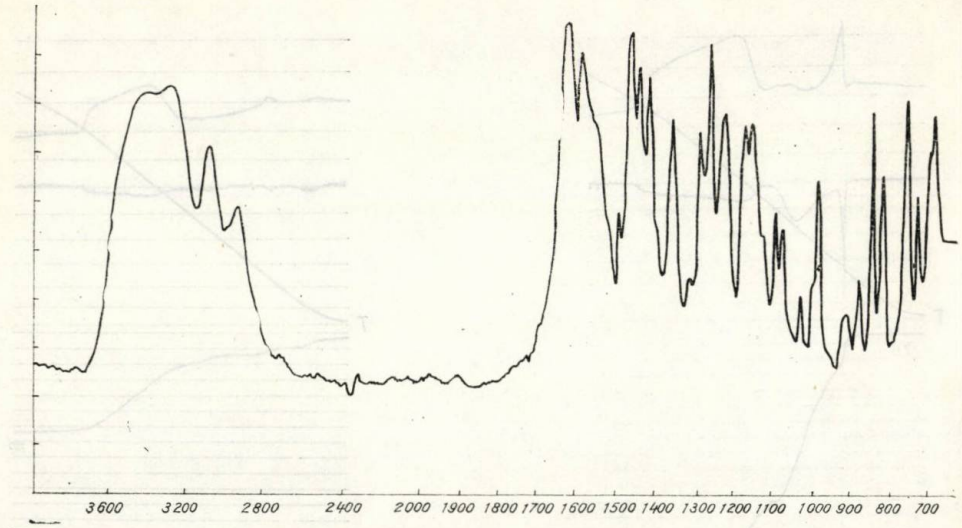


Fig. 4. — Spectrul i.r. al napotonului.

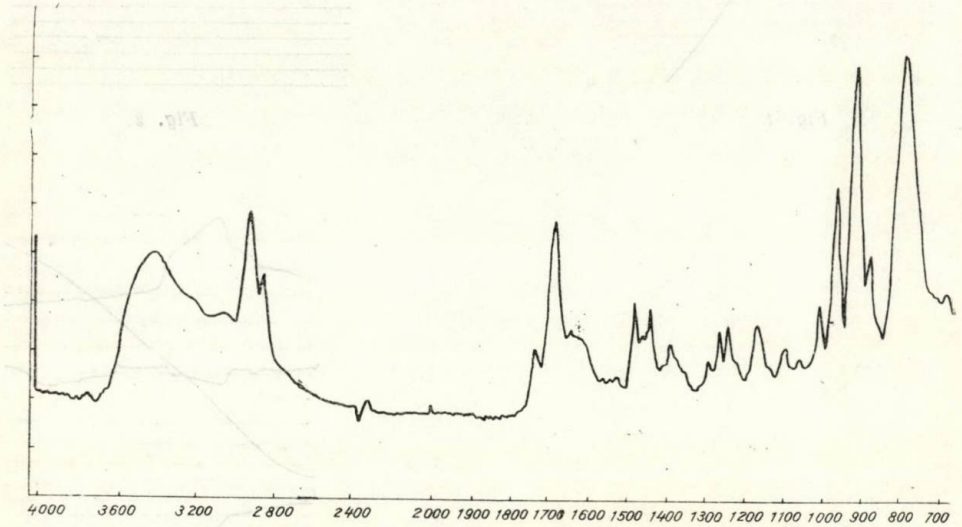


Fig. 5. — Spectrul i.r. al silicowolframatului de napoton.

se piardă și aceste două molecule de apă, rămînînd $SiO_2 \cdot 12\ WO_3$. Aceste două molecule de apă au fost atribuite de R. Ripan, A. Duca și G. Kiss (24), apei de constituție.

Comparînd curba de termoliză a silicowolframatului de napoton cu cea a acidului silicowolframic și a napotonului se constată că produsul precipitat de noi care conține apă de cristalizare se deshidratează treptat asemănător acidului silicowolframic.

Aceste date sînt în acord şi cu determinările chimice ale precipitatelor.

S-au executat de asemenea spectrele i.r. ale napotonului, ale precipitatului silicowolframat şi fosfowolframat de napoton, precum şi ale heteropoliacizilor folosiţi pentru a urmări dacă aceşti compuşi obţinuţi de noi sînt de tip sare (fig. 4—6).

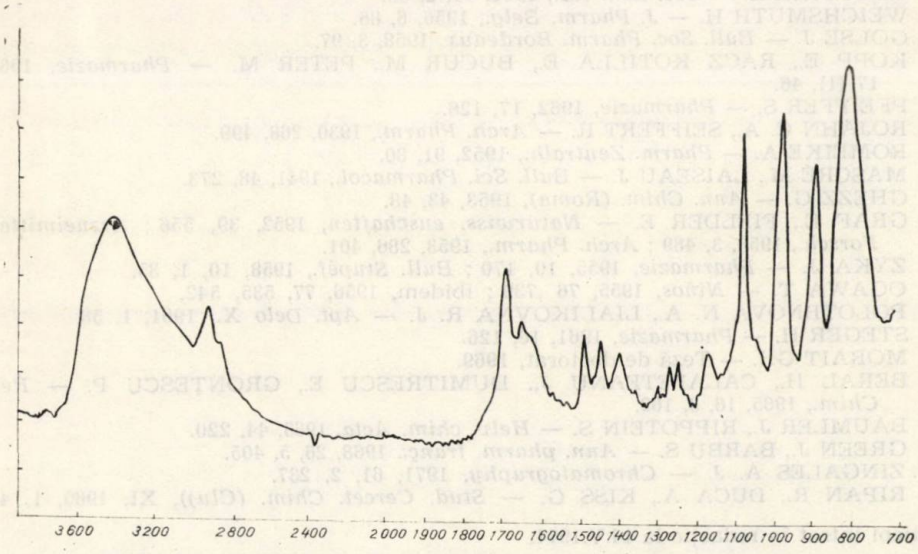


Fig. 6. — Spectrul i.r. al fosfowolframatului de napoton.

În spectrul napotonului apar benzile caracteristice grupării amino-oxid la 970 cm^{-1}, nucleului aromatic (vibraţii de valenţă C—H la 3 000—3 100 cm^{-1}, de deformaţie C—H la 650—900 cm^{-1} şi vibraţii de valenţă C—C la 1 450—1 650 cm^{-1}, cloramina aromatică cu benzile de la 1 597 cm^{-1} şi 1 615 cm^{-1} (suprapusă cu cea a inelului aromatic).

Apare şi banda grupării CH_3—NH—R afectată în procesul de precipitare, la 2 820 cm^{-1} lăţită şi intensă.

Este de subliniat că în spectrele precipitatelor de silicowolframat şi fosfowolframat de napoton, benzile de deformaţie din regiunea 1 600 cm^{-1} sînt afectate cu uşoare deplasări şi lărgiri.

CONCLUZII

S-au studiat reacţiile de precipitare ale napotonului cu heteropoliacizii (acidul silicowolframic şi fosfowolframic).

S-au determinat curbele de termoliză ale napotonului şi silicowolframatului de napoton şi fosfowolframatului de napoton, stabilindu-se comportarea termică a acestor substanţe pentru un interval de temperatură 0—1 000°C.

S-au determinat spectrele i.r. ale precipitatelor de silicowolframat şi fosfowolframat de napoton, comparativ cu spectrele i.r. ale napotonului şi heteropoliacizilor, stabilindu-se că precipitatele formate sînt de tip sare, napotonul protonat precipitînd cu anionul heteropoliacidului.

Pe baza acestor date, ca şi a analizelor chimice, s-a procedat la stabilirea de noi metode de dozare a acestei substanţe.

BIBLIOGRAFIE

1. BERTRAND G. — *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1899, 21, 434, C.R. 128, 792, 1899.
2. HAZARD R. — *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1939, 6, 739, 1 077.
3. JAVILLIER M. — *Bull. Sci. Pharmacol.*, 1910, 17, 315, 629.
4. TEIGNER E. Z. — *Z. anal. Chem.*, 1919, 58, 346.
5. VALLERY L. — *C.R.*, 1942, 214, 171.
6. REKTORIK Z. — *Cas. Lék. čes.*, 1931, 11, 2, 33.
7. WEICHSMUTH H. — *J. Pharm. Belg.*, 1956, 6, 86.
8. GOLSE J. — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1958, 3, 97.
9. KOPP E., RACZ KOTILLA E., BUCUR M., PETER M. — *Pharmazie*, 1962, 17 (1), 46.
10. PFEIFFER S. — *Pharmazie*, 1962, 17, 128.
11. ROJAHN C. A., SEIFFERT R. — *Arch. Pharm.*, 1930, 268, 499.
12. ROMEIKE A. — *Pharm. Zentralh.*, 1952, 91, 80.
13. MASCRÉ M., LAISEAU J. — *Bull. Sci. Pharmacol.*, 1941, 48, 273.
14. GHEZZ G. — *Ann. Chim. (Roma)*, 1953, 43, 48.
15. GRAF E., FIELDER E. — *Naturwiss. euschaften*, 1952, 39, 556 ; *Arzneimittel-Forsch.*, 1953, 3, 489 ; *Arch. Pharm.*, 1953, 286, 401.
16. ZYKA J. — *Pharmazie*, 1955, 10, 170 ; *Bull. Stupéf.*, 1958, 10, 1, 35.
17. OGAWA T. — *Niños*, 1955, 76 ,739 ; ibidem, 1956, 77, 535, 542.
18. POLOTBNOVA N. A., LIALIKOVNA R. J. — *Apt. Delo* X., 1961, 1, 58.
19. STEGER H. — *Pharmazie*, 1961, 16, 126.
20. MORAIT GH. — Teză de doctorat, 1969.
21. BERAL H., CALAFETEANU J,. DUMITRESCU E., GRONȚESCU P. — *Rev. Chim.*, 1965, 16, 3, 169.
22. BÄUMLER J., RIPPOTEIN S. — *Helv. chim. Acta*, 1965, 44, 220.
23. GREEN J., BARBU S. — *Ann. pharm. franç.*, 1968, 26, 5, 405.
23'. ZINGALES A. J. — *Chromatography*, 1971, 61, 2, 237.
24. RIPAN R., DUCA A., KISS G. — *Stud. Cercet. Chim. (Cluj)*, XI, 1960, 1, 43.

Articol intrat în redacție la 14.V.1974.

Indicele de clasificare : 615.789 Napoton—07

SUMMARY

Gh. Morait, Laurenția Petroniu, Silvia Creangă, Crina Popa — THE USE OF HETEROPOLYACIDS IN DRUG ANALYSIS. V. STUDY OF THE PRODUCTS OF THE REACTION BETWEEN NAPOTON AND HETEROPOLYACIDS

The reaction between Napoton and the heteropolyacids : silicowolfram and phosphowolfram acids, was studied with a view to finding new methods for the determination of these substances. The following were determined : quantitative precipitation conditions, the thermal behaviour of Napoton, the substance, and of Napoton silicowolframate and phosphowolframate, and the thermal regime in which the precipitates present a constant mass. The infrared spectra of the precipitates showed that the heteropolyacids form together with Napoton protonate compounds of the salt type.

РЕЗЮМЕ

Г. Мораит, Лауренция Петрониу, Сильвия Крянгэ, Крина Попа — ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕТЕРОПОЛИКИСЛОТ ПРИ АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ. СООБЩЕНИЕ V. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ РЕАКЦИИ МЕЖДУ НАПОТОНОМ И ГЕТЕРОПОЛИКИСЛОТАМИ

Описываются результаты исследования реакции между препаратом ,,напотоном" и гетерополикислотами (силиковольфрамовая кислота и фосфорно-вольфрамовая кислота) — в целях разработки новых методов количественного определения этих веществ. Были установлены условия количественного осаждения, а также и условия термического поведения ,,напотона" — препарата, так и силиковольфрамата и фосфоро-вольфрамата ,,напотона" и был также установлен термический режим, при котором преципитаты получаются в форме константной массы. Были определены инфракрасные спектры преципитатов и было установлено, что гетерополикислоты образуют с протанатом ,,напотона" производные типа соли.

Cercetări asupra unor amide N-substituite din seria acidului fenoxiacetic

V. Arieşan, Zenaida Cojocaru, Doina Ghiran, Elena Chindriş
(Disciplina de chimie farmaceutică, Facultatea de farmacie, Cluj),
Fl. Gagiu, C. Nistor, Al. Cacoveanu
(Institutul Oncologic, Cluj)

REZUMAT *Se studiază aminoliza 1-fenoxiacetil şi 1-(p)-Cl-fenoxiacetil-3,5-dimetilpirazolilor în prezenţa unor sulfamide şi aminoacizi cu scopul obţinerii unor amide biologic active. Se stabilesc unele relaţii între uşurinţa de migrare a acidului şi condiţiile de reacţie. Este testat efectul mitodepresiv al substanţelor preparate în comparaţie cu unele medicamente citostatice semnalîndu-se efecte puternice mai ales în seria amidelor acidului p-clorfenoxiacetic.*

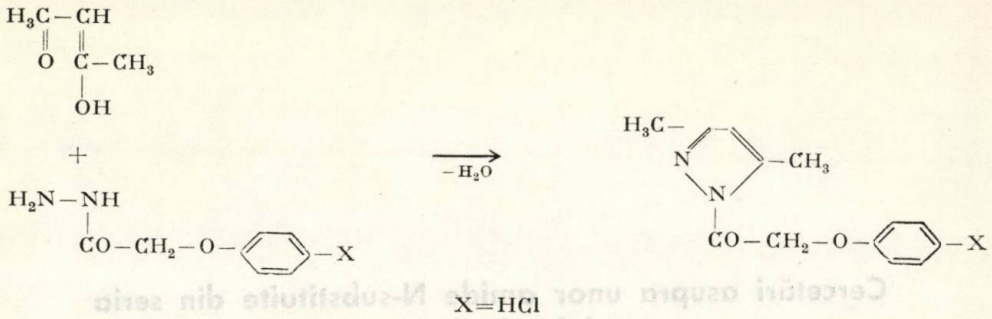
În continuarea cercetărilor noastre (1, 2) privind aminoliza unor 1-acil-3,5-dimetil-pirazoli, ca metodă de preparare a unor amide N-substituite, în lucrarea de faţă s-a studiat aminoliza 1-fenoxi-acetil şi 1-(p)-Cl-fenoxi-acetil-3,5-dimetil-pirazolilor.

Este cunoscută importanţa biologică a acizilor fenoxiacetici şi a unor derivaţi ai lor, ca substanţe cu activitate asupra diviziunii celulei vegetale (3). De asemenea, arsenalul terapeutic cuprinde o serie de medicamente cu acţiune psihostimulentă, care conţin în structura lor componenta p-Cl-fenoxi-acetică (Centrofenoxim, Iproclozid) (4).

Pornind de la aceste considerente, ne-am propus studiul unor amide N-substituite ale acizilor fenoxi şi p-Cl-fenoxiacetici la care am ales ca molecule-suport substanţe considerate de noi ca favorabile acestor acţiuni. Astfel, am grefat componenta fenoxi, respectiv p-Cl-fenoxi-acetică pe gruparea aminică a unor sulfamide, cunoscute ca substanţe cu acţiune mutagenă (5, 6, 7) şi a unor aminoacizi, consideraţi ca molecule-suport favorabile, unii fiind consituenţi normali ai organismelor.

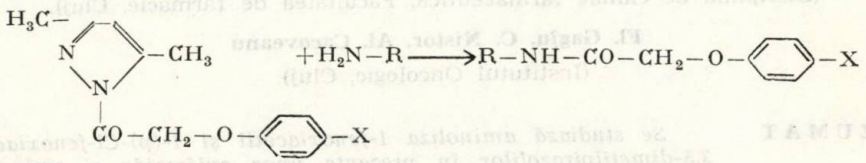
Aminoliza 1-acil-3,5-dimetil-pirazolilor, aşa cum am subliniat şi în alte lucrări (1, 2), constituie o metodă avantajoasă de preparare a amidelor N-substituite, iar extinderea acestui studiu ne permite să urmărim influenţa naturii grupării acil în această reacţie.

1-Fenoxi-acetil- şi 1-p-Cl-fenoxi-acetil-3,5-dimetil-pirazolii au fost obţinuţi prin condensarea hidrazidelor fenoxi-acetice respective cu acetil-acetona (8, 9, 10) conform schemei din text.



X=HCl

1-Acetil-3,5-dimetil-pirazolii astfel sintetizați au fost supuși reacției de aminoliză :



Ușurința reacției de aminoliză, depinde pe de o parte, de nucleofilicitatea aminei, iar pe de altă parte de electrofilicitatea carbonului C=O acidic, ambele fiind influențate de natura radicalilor respectivi. De asemenea, reacția este influențată de natura solventului și temperatura la care se lucrează : în mediu de acid acetic reacția are loc la temperatura camerei, iar în alți solvenți anhidri ca dioxan, tetrahidrofuran, numai la reflux.

Menționînd constantă componenta fenoxi-acetil și variind aminele am putut constata că reacția decurge cu mai mare ușurință pe măsură ce crește nucleofilicitatea aminei. Astfel, spre exemplu, acilarea mafenidului, în care între gruparea $—NH_2$ și nucleul benzenic se interpune o grupare $—CH_2—$, are loc mult mai ușor decît în cazul sulfanilamidei, în care gruparea $—NH_2$ este legată direct de nucleul benzenic. De asemenea, în cazul etoformului în care gruparea carboxilică este transformată în ester, caracterul amfionic fiind eliminat crește nucleofilicitatea aminei și, respectiv, se observă o migrare mai ușoară a acilului, decît în cazul acidului P.A.B.

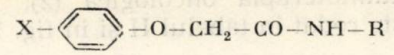
Studiul comparativ al aminolizei 1-fenoxi- și 1-p-Cl-fenoxi-acetil-3,5-dimetil-pirazolilor a arătat că nu există diferențe calitative în mersul reacției.

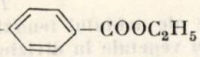
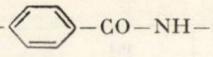
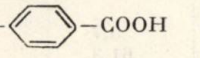
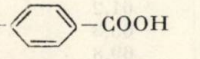
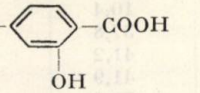
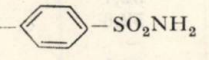
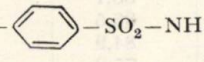
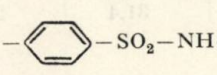
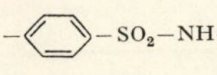
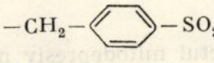
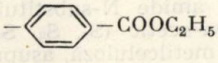
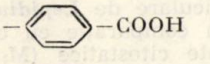
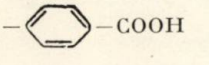
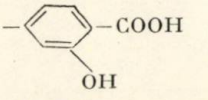
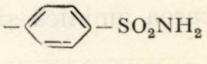
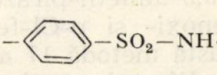
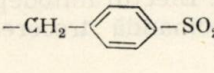
Comparativ cu 1-benzoil-3,5-dimetil-pirazolul se constată că intercalarea între nucleul benzenic și gruparea —CO a componentei $—CH_2—O—$ favorizează reacția de transacilare prin împiedicarea conjugării între nucleul benzenic și gruparea C=O.

Compușii sintetizați sînt prezentați în tabelul I.

Ei au fost testați privind activitatea antimitotică prin biotestul comparativ pe meristeme radiculare de *Lepidium sativum* L (2, 11). Substanțele fiind greu solubile în apă, au fost aduse în emulsie de metilceluloză și testate comparativ cu o serie de 20 medicamente (M_1—M_{20})

Tabelul 1



Nr.	R	X	Formula brută G.M.	P.t.°C recrist.	N%	
					calc.	găsit
	a	b	c	d	e	
1		H	$C_{17}H_{17}O_4N$ 299,223	128–129 alcool	4,68	4,84
2		H	$C_{17}H_{16}O_5N_2$ 328,221	215–217 alcool	8,53	8,54
3		H	$C_{15}H_{13}O_4N$ 271,271	200–203 alcool	5,16	5,23
4		H	$C_{15}H_{13}O_4N$ 271,271	225–227 alcool	5,16	5,36
5		H	$C_{15}H_{13}O_5N$ 297,267	216–218 alcool	4,84	4,71
6		H	$C_{14}H_{14}N_2O_4S$ 306,337	248–249 alcool	9,14	9,02
7		H	$C_{16}H_{18}N_2O_5S$ 358,373	225–226 alcool	7,81	7,62
8		H	$C_{17}H_{15}N_3O_4S_2$ 389,449	247 alcool	10,70	10,80
9		H	$C_{15}H_{16}N_4O_4S$ 348,373	230–232 alcool	16,08	16,20
10		H	$C_{15}H_{16}N_2O_4S$ 320,362	205–206 alcool	8,74	9,00
11		Cl	$C_{17}H_{16}ClNO_4$ 333,767	159–160 alcool	14,19	14,30
12		Cl	$C_{15}H_{12}ClNO_4$ 305,713	225–226 alcool	4,58	4,70
13		Cl	$C_{15}H_{12}ClNO_4$ 305,713	240–241 alcool	4,58	4,60
14		Cl	$C_{15}H_{12}ClNO_5$ 331,712	232–234 alcool	4,22	4,34
15		Cl	$C_{14}H_{13}ClN_2O_4S$ 340,782	270–271 alcool	8,22	8,42
16		Cl	$C_{17}H_{14}ClN_3O_4S_2$ 423,894	272–273 ac. acetic	9,91	10,02
17		Cl	$C_{15}H_{15}O_4N_2SCl$ 354,808	252–253 ac. acetic	7,89	7,93

utilizate curent în chimioterapia oncologică (2). Efectul mitodepresiv al compușilor testați este redat în tabelul II și în fig. 1.

CONCLUZII

S-au studiat aminoliza 1-fenoxi- și 1-p-Cl-fenoxi-acetil-3,5-dimetil-pirazolilor, stabilindu-se unele relații între ușurința de migrare a aci-

Tabelul II

Efectul mitodepresiv prezentat de cîteva amide N-substituite ale acidului fenoxi și p-Cl-fenoxi-acetic, în emulsie de metilceluloză, asupra celulei vegetale în diviziune

Nr.	Inhibiția % mg/ml				
	3,3	1,6	0,8	0,4	0,2
1	40,0	5,9	5,7	5,7	0,6
2	72,6	72,0	61,9	61,3	44,6
3	86,1	85,0	75,8	61,2	56,3
4	66,4	67,5	65,3	65,3	62,9
5	83,3	73,9	71,6	69,8	60,7
6	24,7	20,7	15,0	10,4	0,5
7	60,0	52,9	43,0	37,8	34,7
8	50,8	48,6	45,2	41,2	38,6
9	61,9	66,6	—	41,9	34,1
10	60,0	53,3	56,0	52,1	46,3
11	84,6	70,6	65,0	52,6	45,8
12	93,7	—	—	—	—
13	93,7	91,8	90,5	88,1	85,7
14	94,0	92,0	90,7	86,5	82,8
15	93,0	90,1	85,9	84,9	82,6
16	81,3	82,8	78,0	75,9	75,6
17	76,4	57,6	47,8	31,4	20,8

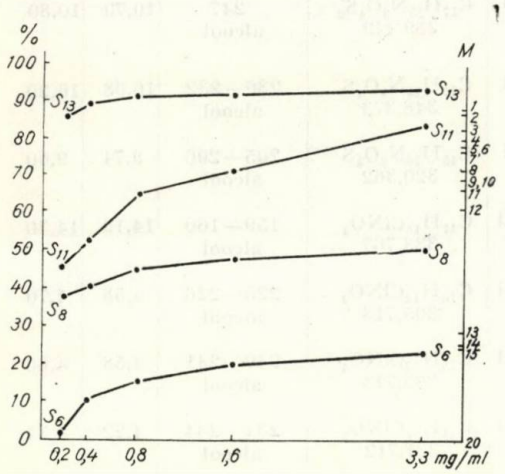


Fig. 1. — Efectul mitodepresiv prezentat de cîteva amide N-substituite ale acidului fenoxi-acetic (S_6, S_8, S_{11}, S_{13}) în emulsie de metilceluloză, asupra meristemelor radiculare de *Lepidium sativum L.*, prin comparație cu o serie de medicamente citostatice (M_1—M_{20}).

dului în funcție de natura radicalilor legați de gruparea aminică și condițiile de reacție.

Aminoliza 1-fenoxi- și 1-p-Cl-fenoxi-acetil-3,5-dimetil-pirazolilor, constituie o metodă avantajoasă de obținere a fenoxi- și p-Cl-fenoxi-acetamidelor N-substituite. S-au sintetizat prin această metodă 17 amide, grefînd acilii pe amina unor sulfamide și aminoacizi. Efectul mitodepresiv prezentat de unii compuși din această serie recomandă trecerea lor într-o etapă superioară de screening antitumoral.

BIBLIOGRAFIE

1. V. ARIEŞAN, Z. COJOCARU, M. MOGA, D. GHIRAN, E. PETEU, M. BORNUZ — Congresul naţional de farmacie, Bucureşti, 7—9 noiembrie 1968. Rezumate p. 5
2. V. ARIEŞAN, Z. COJOCARU, D. GHIRAN, E. CHINDRIŞ, M. IUGA, FL. GAGIU, C. NISTOR, AL. CACOVEANU — *Farmacia (Buc.)*, vol. XXI, 1973, 6, p. 357.
3. B. M. KARAMOV şi colab. — C. A., 60, 1962, p. 12 594 f.
4. V. ZOTTA, A. SERPER, M. POPESCU — *Farmacia (Buc.)*, 1962, 12, p. 705.
5. A. LAZÁNYI — *Com. Acad. R.P.R.*, 1962, 12, p. 3.
6. A. LAZÁNYI şi colab. — *Stud. Cercet. Biol.*, 1961, 12, 2.
7. A. LAZÁNYI — *Stud. Cercet. Biol.*, 1963, 13, 1.
8. W. RIED, SCHLEIMER — Justus Liebigs Am. Chem., 1958, 619, 43.
9. W. REID, B. SCHLEIMER — Justus Liebigs An. Chem., 1958, 626, 98.
10. TAKEDA — *Chem. Ind. Lt. Fr.*, 1369, 476, 1964 ; *C. A.*, 61, 1967, 16 073 g.
11. F. GAGIU, AL. CACOVEANU, C. NISTOR, G. TODOR — Pharmazie, 1972; 4, 135.

Articol intrat în redacţie la 6.XI.1974.

Indicele de clasificare : 615.771.7:547.298.1

SUMMARY

V. Arieşan, Zenaida Cojocaru, Doina Ghiran, Elena Chindriş, Fl. Gagiu, C. Nistor, Al. Cacoveanu — INVESTIGATIONS ON SOME N-SUBSTITUTED AMIDES OF THE PHENOXYACETIC ACID SERIES

The aminolysis of 1-phenoxyacetyl and 1-(p)-Cl-phenoxyacetyl-3,5-dimethylpyrazols was studied in the presence of sulfonamides and amino acids with a view to obtaining biologically active amides. Certain relationships were established between the readiness of the acid to migrate and the conditions of the reaction. The mitodepressive effect of the substances prepared was tested in comparison with some cytostatics and found to be very wtrong especially in the amide series of p-chlorphenoxyacetic acid.

РЕЗЮМЕ

В. Ариешан, Зенаида Кожокару, Дойна Гиран, Елена Киндриш, Ф. Гаджиу, К. Нистор, А. Каковяну — ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ N-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИДОВ ИЗ РЯДА ФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Авторы сообщают результаты исследования аминолиза 1-феноксиацетил и I-(p)Cl-феноксиацетил-3,5-диметилпиразолов в присутствии некоторых сульфамидов и аминокислот в целях получения новых биологически активных амидов. Было установлено наличие некоторой зависимости между легкостью миграции кислоты и условиями реакции. Описываются результаты тестирования митодепрессивного действия приготовленных препаратов по сравнению с некоторыми цитостатическими веществами; подчеркивается сильное действие главным образом со стороны ряда амидов р-хлорофеноксиуксусной кислоты.

REFERAT

IMPORTANŢA REPARTIŢIEI MĂRIMII PARTICULELOR PENTRU PRELUCRAREA SUBSTANŢELOR ÎN SUPOZITOARE - SUSPENSII,

B. W. Müller, Pharmazeutische Industrie, 1974, *36*, 943—946

Se studiază influenţa mărimii particulelor substanţei medicamentoase la prepararea supozitoarelor-suspensii asupra calităţii acestora. În acest scop, autorii au preparat supozitoare, folosind masa Estarinum BC din următoarele substanţe : acid acetilsalicilic, fenacetină, amidopurină şi sulfanilamidă după metoda turnării. Fiecare substanţă a fost folosită în trei variante din punctul de vedere al mărimii particulelor, forma cristalină, pulverizată la „Mixer" şi pulverizată la macro „Cataplex", mărimea particulelor stabilindu-se prin metoda optică-electronică cu un aparat Leitz „Classimat" stabilindu-se în acelaşi timp şi suprafaţa specifică raportată la greutatea particulelor. La supozitoarele preparate după aceste criterii, au fost determinate factorul de deplasare, interpretate statistic, precum şi proprietăţile termoanalitice, diferenţiate cu ajutorul termoanalizorului Dupont. Pe baza acestor date s-au putut stabili influenţa diferitelor mărimi ale particulelor asupra topirii supozitoarelor, precum şi fracţiunile de substanţe medicamentoase dizolvate în masa de supozitoare în decursul preparării. S-a constatat că dizolvarea substanţei active în masa de supozitoare creşte invers proporţional cu dimensiunea particulelor. Cunoscut fiind faptul că substanţa activă dizolvată în excipientul gras, se resoarbe mai greu din supozitor astfel s-a ajuns la concluzia că substanţele medicamentoase nu trebuie încorporate în bazele de supozitoare sub formă micronizată.

I. Cruceanu

Cercetări privind influența unor substanțe cu nucleu piridinic asupra activității ureazei

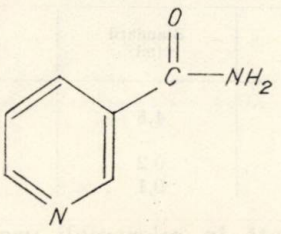
Matilda Rosetti, Denisa E. Mihele

REZUMAT *S-a cercetat influența exercitată de soluțiile de nicotinamidă și de clorhidrat de piridoxină în concentrații variate asupra activității ureazei. S-a constatat că soluțiile de nicotinamidă exercită asupra activității ureazei o acțiune inhibitorie, intensitatea acestei acțiuni, în anumite intervale, fiind dependentă de concentrația inhibitorului. Soluțiile de clorhidrat de piridoxină, în anumite limite de concentrații, exercită de asemenea o acțiune inhibitorie, dependentă de concentrația clorhidratului de piridoxină. Soluțiile preparate din fiole de Vitamina B_6 din farmacii, se comportă identic cu soluțiile de clorhidrat de piridoxină preparate din substanță pură.*

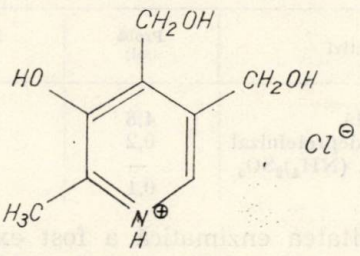
Cercetări anterioare au arătat că o serie de substanțe ca : uretanul, amitalul sodic etc., exercită o acțiune inhibitoare asupra activității ureazei (1, 3, 4, 7).

În cazul uretanului intensitatea inhibiției a fost dependentă de concentrație. Aceasta ne-a sugerat continuarea cercetărilor noastre, în scopul identificării unor substanțe la care dependența inhibiției activității enzimatice de concentrația inhibitorului să fie îndeajuns de riguroasă pentru a permite eventual elaborarea unor metode enzimatice de dozare a acestora (5, 8).

În lucrarea de față s-au luat în studiu două substanțe cu nucleu piridinic : nicotinamida și clorhidratul de piridoxină.



Nicotinamida



Clorhidrat de piridoxină

La aceste substanțe, care exercită o acțiune inhibitorie asupra activității ureazei, s-au cercetat dependența existentă între gradul de inhibiție și concentrația inhibitorului.

Întrucît clorhidratul de piridoxină se găsește în farmaciile din țara noastră sub formă de soluție injectabilă s-a lucrat comparativ pe substanța pură și pe soluțiile provenite din fiole de „Vitamina B_6" (250 mg/ml).

MATERIALE ȘI METODE

DETERMINAREA ACTIVITĂȚII UREAZEI

Determinările activității ureazei au fost făcute după metoda indicată de H. U. Bergmeyer (2), bazată ca și alte tehnici (6, 9, 10), pe principiul hidrolizei ureei la amoniac și bioxid de carbon, sub acțiunea ureazei. Amoniacul eliberat a fost determinat, pe baza reacției Nessler, cu ajutorul unui fotometru de tip Spekol, la lungimea de undă 436 mμ.

În experiențele noastre s-a utilizat o soluție de urează, conținînd 50 mg proteină enzimatică la 1 ml soluție. Ureaza utilizată a fost de proveniență Merck.

Ca inhibitori ai activității ureazei s-au utilizat :

— Soluție apoasă de nicotinamidă în concentrațiile următoare : 1 g% ; 5 g% ; 10 g% ; 15 g% ; 20 g%.

— Soluție apoasă de clorhidrat de piridoxină în concentrațiile : 0,25 g% ; 0,3 g% ; 0,4 g% ; 0,5 g% ; 0,75 g% ; 1 g% ; 1,5 g%.

Paralel cu soluțiile de clorhidrat de piridoxină preparate din substanță pură, s-au utilizat și soluțiile în concentrații identice preparate din fiole de Vitamina B_6 (250 mg/ml) existente în farmacie. Determinările activității ureazei sub influența inhibitorilor menționați s-au efectuat în felul următor :

S-au luat în lucru : 0,1 ml soluție urează, 0,5 ml soluție inhibitor.

Contact timp de o oră la temperatura camerei : 0,5 ml soluție uree 0,1%.

Contact timp de 15 minute la temperatura camerei : 3 ml acid percloric 4%.

Concomitent s-au făcut probe martor în care soluția de inhibitor a fost înlocuită cu apă distilată.

Amoniacul eliberat în probele obținute anterior, într-o probă standard de sulfat de amoniu soluție de concentrație $1{,}22 \times 10^{-3}$ M și într-un blank de reactivi, s-a determinat în felul următor :

Reactivi	Probă (ml)	Martor (ml)	Standard (ml)	Blank (ml)
Apă bidistilată	4,8	4,8	4,8	5
Supernatant deproteinizat	0,2	0,2	—	—
Sol. standard $(NH_4)_2SO_4$	—	—	0,2	—
R. Nessler	0,1	0,1	0,1	0,1

Activitatea enzimatică a fost exprimată în micromoli uree hidrolizată de un ml soluție urează, conținînd 50 mg proteină enzimatică.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Urmărindu-se influența exercitată de soluțiile de nicotinamidă, preparate din substanța pură, din concentrațiile : 1%, 5%, 10%, 15% și 20% s-au obținut rezultatele prezentate în tabelul I.

Aceste rezultate au fost reprezentate în graficul din fig. 1.

Determinîndu-se inhibiţia activităţii ureazei cu soluţii de clorhidrat de piridoxină (Merck) în concentraţiile : 0,25 g% ; 0,3 g% ; 0,4 g% ; 0,5 g% ; s-au obţinut rezultatele prezentate în tabelul II.

Aceste rezultate sînt prezentate în graficul din fig. 2.

Tabelul I

Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea nicotinamidei în funcţie de concentraţia inhibitorului

Concentraţia inhibitorului g%	µmoli uree hidrolizată/1 ml sol. urează	σ (Dev. standard)
1	14,104	±0,005
5	14,001	±0,025
10	9,833	±0,024
15	9,343	±0,011
20	8,815	±0,025

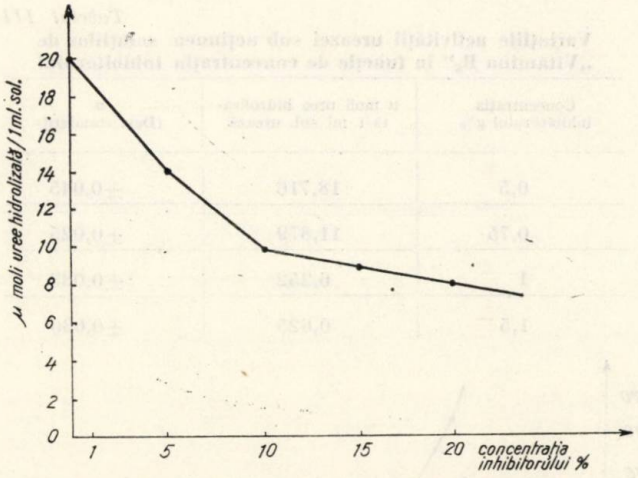


Fig. 1. — Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea nicotinamidei în funcţie de concentraţia inhibitorului.

Tabelul II

Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea clorhidratului de piridoxină în funcţie de concentraţia inhibitorului

Concentraţia inhibitorului g%	µ moli uree hidrolizată/1 ml soluţie urează	σ (Dev. standard)
0,5	18,716	±0,035
0,75	10,002	±0,025
1	4,100	±0,043
1,5	0,625	±0,026

Determinări similare făcute cu soluţii de Vitamina B_6 (250 mg/ml) din farmacie au condus la rezultatele exprimate în tabelul III şi curba din figura 1.

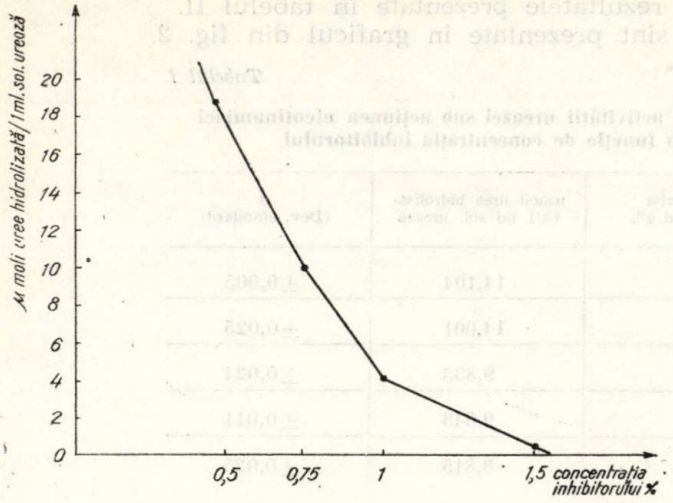


Fig. 2. — Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea clorhidratului de piridoxină în funcţie de concentraţia inhibitorului.

Tabelul III

Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea soluţiilor de „Vitamina B_6" în funcţie de concentraţia inhibitorului

Concentraţia inhibitorului g%	μ moli uree hidrolizată/1 ml sol. urează	σ (Dev. standard)
0,5	18,716	±0,045
0,75	11,879	±0,025
1	6,252	±0,033
1,5	0,625	±0,030

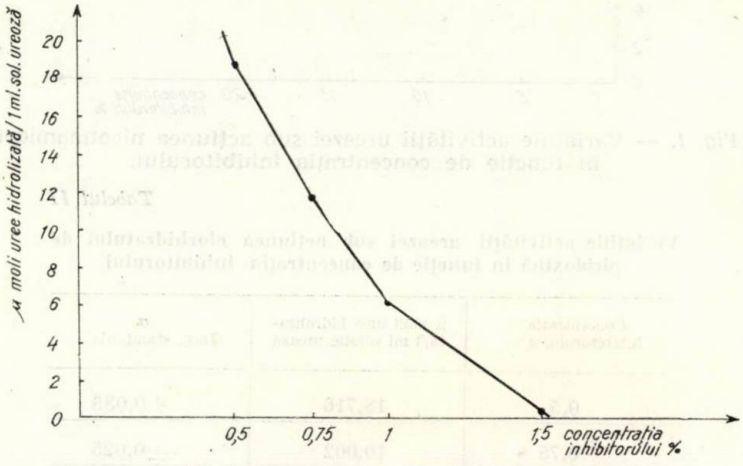


Fig. 3. — Variaţiile activităţii ureazei sub acţiunea soluţiilor de Vitamina B_6 (250 mg/ml), în funcţie de concentraţia inhibitorului.

Din rezultatele obținute reiese că nicotinamida exercită asupra activității ureazei o acțiune inhibitoare, care depinde destul de strict de concentrația soluției, fără ca dependența să fie însă riguros lineară.

În cazul soluțiilor de piridoxină clorhidrică pură și a soluțiilor de Vitamina B_6, preparată din fiole, s-au obținut, cum era și de așteptat, rezultate foarte asemănătoare. Inhibiția a fost dependentă de concentrație, însă curba reprezentativă nu are alura liniei drepte.

Deși nu este vorba de o proporționalitate directă între gradul de inhibiție și concentrația inhibitorului, dependența observată este destul de netă pentru a pleda în favoarea ideii, ca în prezența anumitor inhibitori să se poată obține între inhibiție și concentrația inhibitorului, relații, care să poată fi utilizate în determinări cantitative.

CONCLUZII

1. S-a cercetat influența exercitată de soluții de nicotinamidă și de clorhidrat de piridoxină în concentrații variate asupra activității ureazei.

2. S-a constatat că soluțiile de nicotinamidă exercită asupra activității ureazei o acțiune inhibitorie, intensitatea acestei acțiuni, în anumite intervale, fiind dependentă de concentrația inhibitorului.

3. Soluțiile de piridoxină clorhidrică, în anumite limite de concentrații exercită de asemenea o acțiune inhibitorie, dependentă de concentrația clorhidratului de piridoxină.

4. Soluțiile preparate din fiole de vitamina B_6 din farmacii se comportă identic ca soluțiile de piridoxină clorhidrică preparate din substanță pură.

BIBLIOGRAFIE

1. BARTH A., MICHEI, H. J. — Urease, *Pharmazie*, 1971, 26 (6), 321—328.
2. BERGMEYER H. U. — Methods in Enzymatic Analisis, Academic Press, New York, London, 1963, 401.
3. BLEKELEY R. L., HINDS J. A., KUNZE H. E. — Jack bean urease. Demonstration of a carbamoyl transfer reaction and inhibition by hydroxamic acids, *Biochemistry*, 1969, 8, 5, 1 991—2 000.
4. DIXON M., WEBB C. E. — Enzymes, Ed. Longmans, London, 1965, 159.
5. JAVILLIER M., POLONOVSCHI M. — Traité de Biochimie générale, vol. II, Ed. Masson, Paris, 1964, 438.
6. MAMULEA O., TOCILESCU F. — Determinarea ureei sanguine prin metoda enzimatică cu urează, *Stud. Cercet. Biochim.*, 1967, 3 (10), 267—272.
7. ROSETTI M., MIHELE D., FERARU I. — Cercetări privind influența unor substanțe medicamentoase asupra activității ureazei, *Farmacia*, 1974, 22 (1), 1—6.
8. SANDI E. — Simple enzymic method for determinind small amounts of compounds containing mercury, *Chem. pharm. Tech. (Leipzig)*, 1970, 22 (9), 557.
9. SUMMER J. B. — Urease in Colowick, S. P., Kaplan N. O. — Metods in Enzymology, vol. II, Acad. Press, New York, London, 1968.
10. * * * — Metodele laboratorului clinic, Ed. medicală, București, 1964.

Articol intrat în redacție la 8.XI.1973.

Indicele de clasificare : 615.356 B_6:547.495.2

SUMMARY

Matilda Rosetti, Denisa Mihele — INVESTIGATIONS ON THE INFLUENCE OF CERTAIN SUBSTANCES WITH A PYRIDIN NUCLEUS ON UREASE ACTIVITY

Investigations were carried out on the influence of nicotinamide and pyridoxin hydrochlorate solutions in various concentrations on urease activity. Nicotinamide solutions had an inhibitory effect, the intensity of this effect depending at certain intervals upon the concentration of the solution. Pyridoxin hydrochlorate likewise had, within certain concentration limits, an inhibitory effect that depended upon its concentration. The solutions prepared from vitamin B_6 vials taken from pharmacies behaved identically with pyridoxin hydrochlorate, prepared from the pure substance.

РЕЗЮМЕ

Матильда Россети, Дениса Михеле — ИССЛЕДОВАНИЕ ПО ВОПРОСУ ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ОБЛАДАЮЩИХ ПИРИДОНОВЫМ ЯДРОМ ВЕЩЕСТВ НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ УРЕАЗЫ

Авторы исследовали влияние, оказываемое растворами никотинамида и хлоргидрата пиридоксина в различных концентрациях на деятельность уреазы. Было констатировано, что растворы никотинамида оказывают на деятельность уреазы тормозящее действие и что интенсивность этого действия во время некоторых промежутков зависит от концентрации тормозителя. Растворы хлоргидрата пиридоксина в определенных пределах концентрации также оказывают тормозящее действие в зависимости от концентрации хлоргидрата пиридоксина. Растворы, приготовленные в ампулах витамина B_6 находящихся в аптеках, обладают таким же действием как и растворы хлоргидрата пиридоксина, приготовленные из чистого препарата.

Determinarea colorimetrică a aminofenazonei din diferite forme farmaceutice

Camelia Ghimicescu, Maria Stan, V. Dorneanu

Disciplina de controlul medicamentului, Facultatea de farmacie, Institutul de medicină și farmacie, Iași

REZUMAT *Se propune o metodă colorimetrică de determinare cantitativă a aminofenazonei din diverse forme farmaceutice. Metoda se bazează pe reacția aminofenazonei cu acidul fosfomolibdenic, cînd apare o coloraţie verde care se intensifică la adăugare de alcool. S-au studiat factorii care influenţează maximum de absorbţie : lungimea de undă, cantitatea de reactiv, cantitatea de alcool etc. ; s-a constatat de asemenea că fenazona, cafeina, fenacetina, codeina, fenobarbitalul, papaverina, atropina cu care se găseşte asociată aminofenazona în diverse forme farmaceutice nu interferă reacţia. Metoda a fost aplicată la determinarea aminofenazonei din comprimate de piramidon, antimigrin, sirenon, lizadon şi supozitoare pentru copii cu aminofenazonă, cu bune rezultate.*

Aminofenazona (1-fenil, 2-3-dimetil, 4-dimetilamino-5-pirazolona), intră în componenţa multor forme farmaceutice, fie ca atare, fie asociat cu alte chimioterapice.

Pentru controlul calitativ şi cantitativ al acestor forme, se caută întotdeauna metode simple, precise şi uşor de aplicat. În acest scop s-a elaborat o metodă colorimetrică de determinare cantitativă a aminofenazonei, în prezenţa unor substanţe care o însoţesc în diverse forme farmaceutice, folosind ca reactiv acidul fosfomolibdenic.

Bazîndu-se pe caracterul reducător accentuat al aminofenazonei Wachsmuth (1) a utilizat această proprietate pentru reducerea acidului fosfomolibdenic la albastru de molibden. El a constatat că acidul fosfomolibdenic formează un precipitat cu aminofenazona, care se solubilizează în mediu alcalin dînd o coloraţie albastră.

Guleaeva (2), constată că utilizarea reactivului Folin-Denis (fosfomolibdat de amoniu, wolframat de amoniu şi acid fosforic, încălzit la reflux timp de 2 ore) face ca reacţia să fie mai sensibilă.

În metoda propusă de noi, folosim ca reactiv numai o soluţie de acid fosfomolibdendic, reacţia de culoare, avînd loc în mediu acid, sensibilitatea reacţiei fiind mult mărită prin adăugare de alcool (de cca 150 de ori).

Principiul metodei. Soluţia apoasă în aminofenazonă tratată cu acid fosfomolibdenic formează o coloraţie verde care se intensifică la adăugare de alcool ; soluţiei hidroalcoolice i se determină absorbţia.

STABILIREA CURBEI ETALON

Reactivi

1. Acid fosfomolibdenic soluţie apoasă 10% : se cîntăresc 10 g acid fosfomolibdenic care se dizolvă la cald pe baia de apă, sub agitare, după răcire se completează volumul la 100 ml.

2. alcool etilic 96° ;

3. soluţie etalon de aminofenazonă (piramidon) ;

a. soluţie stoc de aminofenazonă cu conţinutul de 1 mg/ml ; se cîntăresc 0,100 g aminofenazonă, cu o precizie de 0,0002 g, se aduc cu apă într-un balon cotat de 100 ml, se agită pînă la completa dizolvare, după care se completează cu apă distilată la semn ;

b. soluţia etalon de lucru : se prepară din soluţia stoc, prin diluţii pentru a obţine concentraţii cuprinse între 5 şi 100 μg aminofenazonă/ml soluţie.

Modul de lucru. La soluţia etalon de diverse concentraţii, adusă la volumul de 1 ml cu apă distilată, se adaugă 0,5 ml soluţie reactiv şi după 10 minute se completează cu alcool la volumul de 5 ml. După 30 de minute se determină absorbţia la lungimea de undă de 630 nm (filtrul 8 în cazul fotoelectrocolorimetrului FEK), folosind cuva de 1 cm, faţă de o probă martor. Cu datele obţinute s-a construit curba de etalonare, folosind metoda celor mai mici pătrate (fig. 1). Se constată că legea Lambert-Beer este respectată, rezultatele fiind reproductibile.

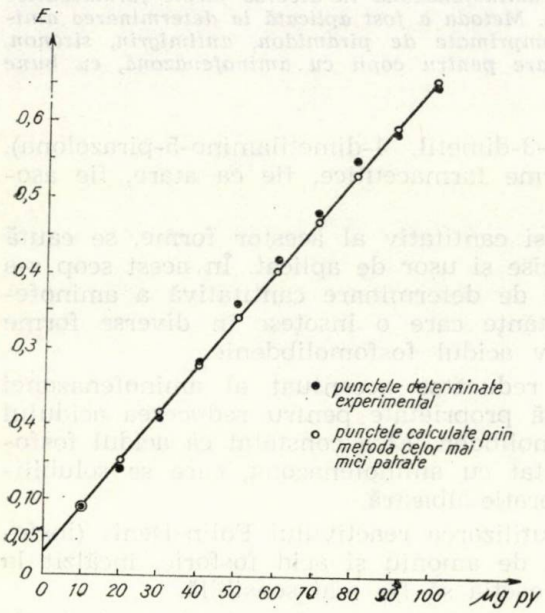


Fig. 1. — Curba de etalonare pentru determinarea aminofenazonei (Py), folosind ca reactiv de culoare acidul fosfomolibdenic în mediu hidroalcoolic.

DISCUŢII

Compusul rezultat prezintă un maximum de absorbţie la 400—420 nm (datorită excesului de reactiv) şi unul la 630 nm, caracteristic (care lipseşte în cazul martorului) (fig. 2).

S-a constatat că volumul de reactiv necesar unei reacţii totale este de 0,5 ml pentru un domeniu de concentraţii cuprins între 0 şi 100 μg

aminofenazonei în probă și de 2 ml pentru o concentrație în aminofenazonă cuprinsă între 100 și 500 μg în probă.

De asemenea s-a constatat că alcoolul intensifică foarte mult culoarea, după cum se constată din curbele de etalonare comparative (fig. 3), trasate în absența alcoolului, curba I, și în prezența alcoolului, curba II. Adăugînd alcoolul imediat după reactiv, după 5 minute și după 10 mi-

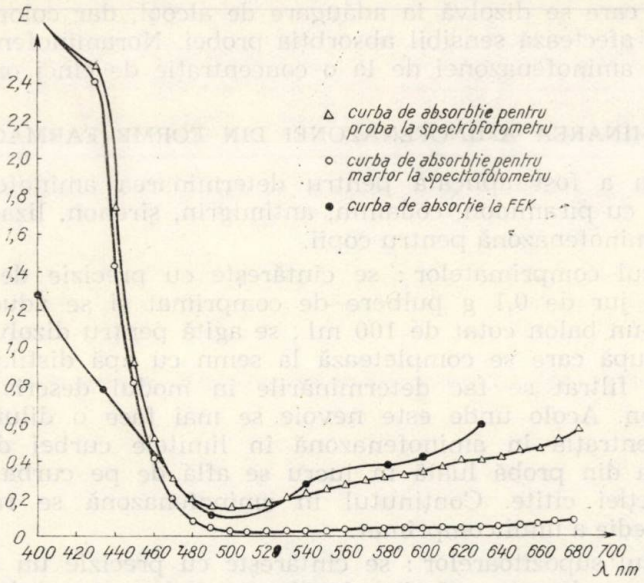


Fig. 2. — Spectrul de absorbție în vizibil a produșilor de reacție a aminofenazonei cu acidul fosfomolibdenic.

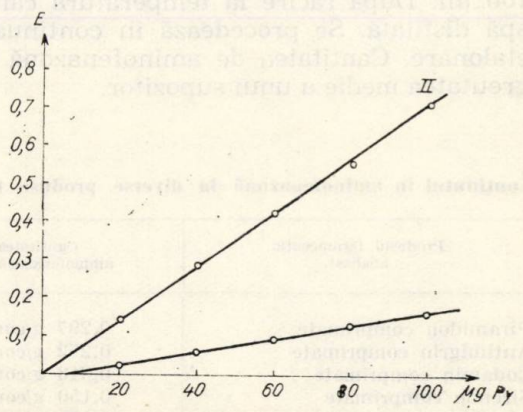


Fig. 3. — Curbele de etalonare pentru determinarea aminofenazonei (Py) cu acid fosfomolibdenic, în mediu apos, curba I și mediu hidroalcoolic, curba II.

nute, s-a constatat că absorbția maximă o prezintă probele la care alcoolul s-a adăugat mai tîrziu ; cele mai bune rezultate se obțin cînd alcoolul se adaugă după 10 minute după reactiv. Intensitatea maximă de culoare se obține după 30 de minute de la adăugarea alcoolului și rămîne stabilă peste 40 de minute. De remarcat este faptul că dacă se folosește o soluție alcoolică de acid fosfomolibdenic nu mai apare coloratia verde caracteristică.

Reacţia de culoare a fost studiată şi în prezenţa altor substanţe care se găsesc asociate cu aminofenazona în diferite forme farmaceutice. Cafeina, codeina, fenazona, fenacetina, barbitalul, fenobarbitalul, papaverina şi atropina nu interferă : codeina, papaverina şi atropina precipită la concentraţii mari cu acidul fosfomolibdenic, precipitatele însă sînt insolubile în alcool. Fenacetina, barbitalul şi fenobarbitalul nu reacţionează, iar fenazona şi cafeina dau un precipitat galben cu acidul fosfomolibdenic, care se dizolvă la adăugare de alcool, dar coloraţia galbenă obţinută nu afectează sensibil absorbţia probei. Noraminofenazona interferă reacţia aminofenazonei de la o concentraţie de cinci ori mai mare.

DETERMINAREA AMINOFENAZONEI DIN FORME FARMACEUTICE

Metoda a fost aplicată pentru determinarea aminofenazonei din comprimate cu piramidon, codamin, antimigrin, sirenon, lizadon şi supozitoare cu aminofenazonă pentru copii.

În cazul comprimatelor : se cîntăreşte cu precizie de 0,0002 g o cantitate în jur de 0,1 g pulbere de comprimat şi se aduce cantitativ cu apă într-un balon cotat de 100 ml ; se agită pentru dizolvarea aminofenazonei după care se completează la semn cu apă distilată şi se filtrează. Din filtrat se fac determinările în modul descris la trasarea curbei etalon. Acolo unde este nevoie se mai face o diluţie pentru a aduce concentraţia în aminofenazonă în limitele curbei de etalonare. Concentraţia din probă luată în lucru se află de pe curba etalon conform extincţiei citite. Conţinutul în aminofenazonă se raportează la greutatea medie a unui comprimat.

În cazul supozitoarelor : se cîntăreşte cu precizie un supozitor, se aduce într-un pahar cu apă şi se încălzeşte cînd se separă baza de supozitor şi se dizolvă în apă aminofenazona ; se filtrează şi se spală de cîteva ori filtrul, apele de spălare fiind reunite într-un balon cotat de 100 ml. După răcire la temperatura camerei se completează la semn cu apă distilată. Se procedează în continuare ca pentru trasarea curbei de etalonare. Cantitatea de aminofenazonă găsită în probă se raportează la greutatea medie a unui supozitor.

Tabelul I

Conţinutul în aminofenazonă la diverse produse farmaceutice, stabilit prin metoda propusă

Produsul farmaceutic analizat	Cantitatea de aminofenazonă găsită	Condiţii de admisibilitate (norma internă)
Piramidon comprimate	0,297 g/compr.	0,280—0,320 g/compr.
Antimigrin comprimate	0,272 g/compr.	0,266—0,306 g/compr.
Codamin comprimate	0,313 g/compr.	0,280—0,320 g/compr.
Sirenon comprimate	0,150 g/compr.	0,141—0,159 g/compr.
Lizadon comprimate	0,146 g/compr.	0,141—0,159 g/compr.
Aminofenazonă L (supozitoare pentru copii)	0,097 g/supoz.	0,090—0,110 g/supoz.

În tabelul I sînt prezentate rezultatele obţinute la determinarea aminofenazonei din formele citate.

Se constată că valorile obţinute se încadrează în limitele admise de normele interne în vigoare pentru produsele respective.

CONCLUZII

S-a elaborat o metodă colorimetrică de determinare cantitativă a aminofenazonei din forme farmaceutice bazată pe reacţia sa cu acidul fosfomolibdenic, cînd se obţine o coloraţie verde care se intensifică la adăugare de alcool. Sensibilitatea metodei este de 1 μg aminofenazonă/ml.

Metoda a fost aplicată la determinarea aminofenazonei din comprimate de piramidon, codamin, antimigrin, sirenon, lizadon şi supozitoare pentru copii, cu bune rezultate.

BIBLIOGRAFIE

1. WACHSMUTH H. — Quelques determinations qualitatives et quantitatives à l'aide des derivates molybdiques, *J. Pharm. Belg.*, 1937, 31, 575—577.
2. GULEAEVA T. E. — Fotokolorimetriceskoe opredelenie piramidona, *J.A.H.*, 1950, 5, 163—165.

Articol intrat în redacţie la 4.III.1974.

Indicele de clasificare : 615.783 Aminofenazona—014.1

SUMMARY

Camelia Ghimicescu, Maria Stan, V. Dorneanu — COLORIMETRIC DETERMINATION OF AMINOPHENAZONE IN DIFFERENT PHARMACEUTICAL FORMS

A colorimetric method for the quantitative determination of aminophenazone in various pharmaceutical forms is described. The method is based upon the reaction of aminophenazone with phosphomolybdenic acid, the green colour that appears becoming more intense when alcohol is added. The factors influencing maximum absorption were studied : wave length, amount of reagent, amount of alcohol, etc. Phenazone, caffeine, phenacetine, codeine, phenobarbital, papaverine and atropin, substances often associated with aminophenazone in various pharmaceutical forms, do not interfere with the reaction. Good results were obtained by applying this method for the determination of aminophenazone in pyramidon, Antimigrin, Sirenon, Lysadon tablets and suppositories for children containing aminophenazone.

РЕЗЮМЕ

Камелия Гимическу, Мария Стан, В. Дорняну—КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОФЕНАЗОНА В РАЗЛИЧНЫХ АПТЕЧНЫХ ФОРМАХ

Авторы предлагают колориметрический метод количественного определения аминофеназона в различных аптечных формах. Метод основан на реакции аминофеназона с фосфорномолибденовой кислотой, когда появляется зеленая окраска, которая усиливается при добавлении спирта. Были исследованы факторы, которые влияют на максимум абсорбции: длина волны, количество реактива, количества спирта и т.д. Было констатировано также, что фенозон, так же как и кофеин, фенацитин, кодеин, фенобарбитал, папаверин, атропин с которым соединяется аминофеназон в различных аптечных формах, не интерферирует реакцию. Метод был применен при определении аминофеназона в таблетках пирамидона, антимигрина, сиренона, лизадона и в содержащих аминофеназон суппозиториях для детей — с хорошими результатами.

REFERAT

CERCETAREA CAPACITĂŢII DE CORECTARE A GUSTULUI LA SORBITĂ, **Szirovicza´né Dr. Ferenczi Ilona, Fülöp Gyula,** Gyógyszerészet, 1974, *18*, 252—255

Autorii au efectuat cercetări privind posibilităţile de corectare al gustului medicamentelor cu ajutorul sorbitei. În acest scop au făcut experimentări comparative între o soluţie 70% sorbită şi siropul simplu, urmărind efectul asupra preparatelor amare, acre, sărate şi astringente după metoda Purdum, pe care au găsit-o cea mai adecvată pentru studii comparative. Folosind un număr de 10 probanzi în scopul eliminării abaterilor subiective, rezultatele au fost interpretate statistic după procedeul Student. Pentru gustul amar au fost folosite 15 diluţii progresive de clorhidrat de chinină (între 0,0001 şi 0,029 g/g%), pentru gustul acru acelaşi număr de diluţii, conţinînd acid tartric (între 0,20 şi 2,00 g/g%), pentru cel sărat au folosit soluţii de clorură de sodiu (între 0,10 şi 1,80 g/g%), iar pentru cel astringent soluţii de alaun de potasiu (între 0,05 şi 0,50 g/g%), iar cantitatea de soluţie de sorbită 70% şi de sirop simplu adăugată fiind în toate cazurile în proporţie de 30 : 70. Din rezultatele obţinute, autorii au ajuns la concluzia că soluţia de sorbită 70% are aceeaşi capacitate medie de acoperire a gustului, ca şi siropul simplu luat în aceeaşi proporţie. Stabilind experimental că soluţiile de sorbită în cantităţile folosite nu suferă alterări enzimatice sub influenţa drojdiei de bere, adică nu fermentează, autorii recomandă avantajele multiple terapeutice ale acestuia în special în medicaţia infantilă şi la bolnavii de diabet zaharat.

I. Cruceanu

Aetheroleum Thymi produs în România

H. Popescu

REZUMAT *S-au analizat trei mostre din ani diferiți, din* Aetheroleum Thymi *obținut industrial în România prin antrenare cu vapori de apă din* Thymus vulgaris L. *Produsul este un lichid limpede, galben închis, solubil 1 : 2 în etanol 80°, cu* $d_{20} = 0{,}901—0{,}911$, $n_D^{20} = 1{,}494—1{,}498$ *și* $\alpha_D^{20} = -0{,}4° \ldots -1°$. *Prin cromatografie pe strat subțire și prin interpretarea spectrului IR s-au identificat componentele principale : timol, acetat de bornil, borneol, p. cimen, 1,8-cineol, limonen, linalool, α-pinen și β-pinen. Totalul fenolic variază între 31,5% și 36% vol.*

Studiile de specialitate care se referă la uleiul volatil de cimbru de proveniență românească sînt puține la număr (2, 3, 4) și se ocupă numai de probe extrase în laborator.

În această lucrare se prezintă rezultatele care s-au obținut, analizînd trei mostre din ani diferiți, din produsul oficinal *Aetheroleum Thymi* care se realizează industrial la Întreprinderea plante medicinale din Orăștie, jud. Hunedoara și care este destinat consumului intern și exportului.

CARACTERELE ORGANOLEPTICE ȘI CONSTANTE FIZICO-CHIMICE

Uleiul volatil de cimbru se obține prin antrenare cu vapori de apă, din părțile aeriene nelignificate și înflorite ale plantei *Thymus vulgaris* L. recoltate din culturi și uscate.

Produsul este un lichid limpede, de culoare galben-închis cu miros plăcut, caracteristic, care amintește timolul.

Tabelul I

Aetheroleum Thymi. Principalele constante fizico-chimice determinate și comparativ cîteva norme actuale de calitate

	d_{20}	n_D^{20}	α_D^{20}
Mostra I	0,901	1,498	−0,5°
Mostra II	0,911	1,497	−1°
Mostra III	0,904	1,494	−0,4°
DAB 7 (13)	0,900—0,935	0,490—1,510	−4° ... +0,5°
FR VIII (14)	0,900—0,935	1,490—1,500	−7° ... +7°
Codex (15)	0,904—0,955	1,491—1,510	−5° ... 0°
Ph. Helv. (16)	0,900—0,935	1,491—1,508	−8° ... 0°

Are un gust camforat, aromatic și lasă pe limbă o senzație de căldură. Prin conservare îndelungată își schimbă treptat culoarea, pînă la brun-roșcat.

Constantele fizico-chimice ale celor trei mostre de ulei volatil, după cum rezultă din tabelul I, sînt valori care corespund normelor de calitate înscrise în cele mai moderne lucrări de specialitate.

Uleiul volatil dă soluții limpezi, cu reacție slab acidă la turnesol, după amestecare cu 2 volume alcool etilic 80°. În mod obișnuit se urmărește ca produsul să fie solubil în alcool etilic 80° în proporție de 1 : 2 (14) sau chiar în volume 1 : 3 (15).

IDENTIFICAREA PRINCIPALELOR COMPONENTE

Pentru identificarea componentelor caracteristice s-a recurs la cromatografia pe strat subțire și la interpretarea spectrului în infraroșu al uleiului volatil.

Prin cromatografie pe strat subțire, s-a reușit evidențierea unui număr de 12 spoturi colorate diferit, dintre care 6 s-au identificat ca fiind : timol, limonen, linalool, acetat de bornil, borneol și 1,8—cineol (tabelul II).

Tabelul II

Aetheroleum Thymi. Cromatografie pe strat subțire

Culoarea spotului	Valori Rf	Intensitate	Componenta identificată
Violet	0,92—1	+++	hidrocarburi
Roz	0,85—0,90	+	
Cenușiu	0,70—0,80	+	
Verde-Cenușiu	0,62—0,68	+	acetat de bornil
Roșu carmin	0,54—0,60	+++	timol
Violet	0,50—0,54	+	limonen --
Albastru-deschis	0,45—0,49	+	1,8-cineol
Violet	1,40—1,45	+	
Albastru	0,35—0,40	++	linalool
Cenușiu	0,30	+	
Albastru	0,25	+	borneol
Trenă cenușiu-cafenie	0—0,25	+	

În uleiul volatil de *Thymus vulgaris* L. extras în laborator din planta recoltată în Grădina Botanică din București a fost semnalată prezența componentelor : linalool, timol, acetat de bornil și acetat de linalil, iar în uleiul de *Thymus vulgaris* L. provenit din Grădina Botanică a Facultății de farmacie din Tg. Mureș : borneol, linalool, timol și acetat de linalil (4).

Cromatogramele pe strat subțire ale celor trei mostre de ulei volatil obținut industrial au fost identice.

În spectrul de absorbție în infraroșu al uleiului volatil de cimbru de proveniență românească, maximele de absorbție cele mai proeminente demonstrează predominanța combinațiilor ciclice cu structură monoterpenică și a combinațiilor aromatice de tip metil-1 izopropil-4 benzen.

Pentru existența combinațiilor cu structura monoterpenică monociclică pledează următoarele localizări :

— la 2930 cm^{-1}, νCH_2 asim. (11, 12), unul din semnalele de cea mai mare intensitate ;

— la 1465 cm^{-1} δCH_2 confirmă prezența acelorași grupări (11).

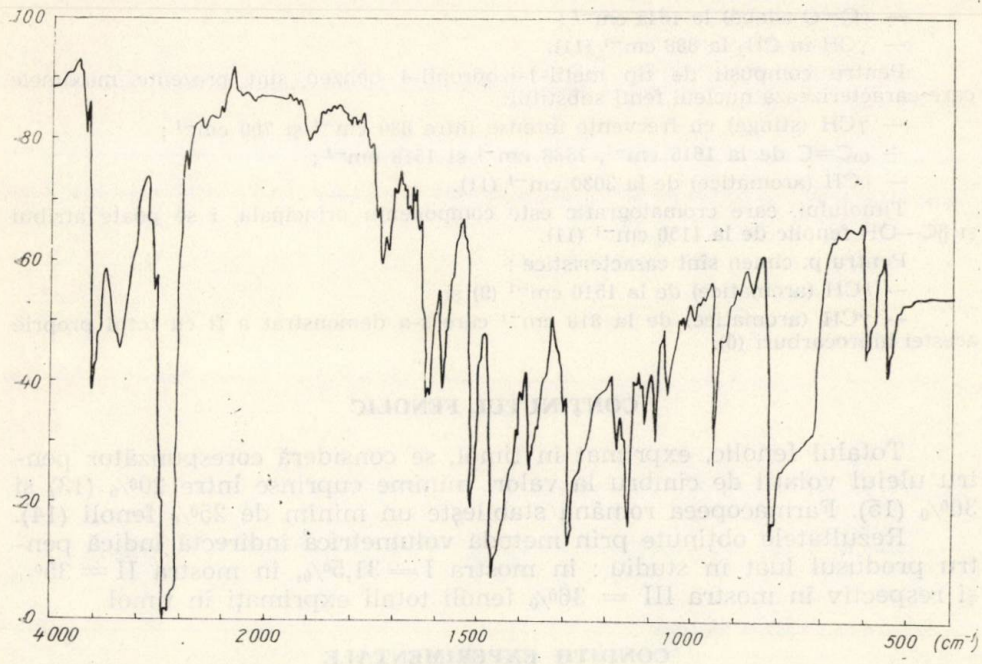


Fig. 1

Configurația ciclică în dispunerea metilenilor identificați este dovedită de trei maxime generate de vibrațiile de inel caracteristice pentru ciclohexanii substituiți :

— la 1045 cm^{-1} și 1040 cm^{-1} în banda 1000—1055 cm^{-1} ;

— 996 cm^{-1} în banda 952—1000 cm^{-1} (8).

Absorbția de la 2970 cm^{-1}, νCH_3 asim. este atribuită legăturilor C—H din gruparea metil de la poziția 7 în structura monoterpenelor monociclice și biciclice. La 2870 cm^{-1}, νCH_3 sim. pledează pentru existența aceleeași grupări (11) și de asemenea δCH_3 de la 1455 cm^{-1} (1, 11), care deși este de mare intensitate, abia se poate individualiza într-un grup de maxime alăturate.

Radicalul izopropil din poziția 4 a monoterpenelor monociclice generează δCH_3 la 1178 cm^{-1} (11).

La 1382 cm^{-1} se observă δCH_3 caracteristică pentru structura $H_3C—C—CH_2$ a monoterpenelor biciclice, iar vibrația înregistrată la 1367 cm^{-1} confirmă aceeași configurație a grupărilor izopropil ca δCH_3 (11).

Pe lîngă absorbțiile atribuite structurii monoterpenelor biciclice, în sprijinul identificării cromatografice a acetatului de bornil pledează maximele :

— $\omega C=O$ esteric de la 1745 cm^{-1} ;

— $\omega C=O$ esteric de la 1730 cm^{-1}, caracteristice pentru acetați (11).

Prezența funcțiilor alcoolice din structurile borneolului liber și linaloolului, identificați cromatografic este marcată în spectru prin maximele :

— νOH liber de la 3690 cm^{-1} și 3630 cm^{-1} ;

— $\delta C—OH$ de la 1060 cm^{-1} la 1021 cm^{-1} (11).

Identificarea pinenilor α și β s-au făcut după considerarea anterioară a localizărilor caracteristice structurii lor generale. Ca semnale edificatoare pentru α-pinen sînt recunoscute :

— $\omega C=C$ neconjugată, de intensitate slabă, de la 1662 cm^{-1} și

— δCH în CH_3 de la 1302 cm^{-1} (11) ;

iar pentru β-pinen :

— νCH în vinil (slab) de la 3060 cm^{-1} ;

— νC=C de la 1637 cm^{-1} ;

— γCH de la 858 cm^{-1} (5).

Limonenul este confirmat de maximele :

— ωC=C la 1680 cm^{-1} ;

— νC=C (slabă) la 1645 cm^{-1} ;

— γCH în CH_2 la 888 cm^{-1} (11).

Pentru compușii de tip metil-1-izopropil-4 benzen sînt prezente maximele care caracterizează nucleul fenil substituit :

— γCH (stînga) cu frecvențe intense între 830 cm^{-1} și 700 cm^{-1} ;

— ωC=C de la 1615 cm^{-1}, 1588 cm^{-1} și 1518 cm^{-1} ;

— νCH (aromatice) de la 3030 cm^{-1} (11).

Timolului, care cromatografic este componenta principală, i se poate atribui și δC—OH fenolic de la 1150 cm^{-1} (11).

Pentru p. cimen sînt caracteristice :

— νCH (aromatice) de la 1510 cm^{-1} (9) și

— γCH (aromatice) de la 818 cm^{-1} care s-a demonstrat a fi cu totul proprie acestei hidrocarburi (6).

CONȚINUTUL FENOLIC

Totalul fenolic, exprimat în timol, se consideră corespunzător pentru uleiul volatil de cimbru la valori minime cuprinse între 20% (13) și 30% (15). Farmacopeea română stabilește un minim de 25% fenoli (14).

Rezultatele obținute prin metoda volumetrică indirectă indică pentru produsul luat în studiu : în mostra I = 31,5%, în mostra II = 35% și respectiv în mostra III = 36% fenoli totali exprimați în timol.

CONDIȚII EXPERIMENTALE

Cromatogramele pe strat subțire s-au realizat cu plăci de sticlă de 250 × 50 mm, acoperite cu Kieselgel G Merck, formula Stahl 2,5 g suspendat în 5 ml apă distilată. După uscare, stratul de silicagel a fost împărțit de-a lungul plăcii în două benzi de lățime egală. Activarea s-a făcut la 110°C timp de 60 minute. Pe una din benzile de silicagel s-a aplicat proba de ulei volatil, a doua bandă, servind pentru aplicarea substanțelor de referință.

Atît uleiul volatil, cît și substanțele de referință au fost aplicate în strat după o prealabilă dizolvare în cloroform. S-au realizat în toate cazurile soluții 0,1 : 10 în volume. Din aceste soluții s-au aplicat în punctele de start cîte 0,05 ml pentru substanțele de referință și 0,10 ml pentru uleiul volatil.

Ca fază mobilă s-a folosit un amestec de toluen cu acetat de etil 9 : 1 în volume, la temperatura de 22±1°C, fără saturarea bacului. Distanța de migrare de 200 mm a fost parcursă în timp de 60 minute (10).

Identificarea componentelor s-a făcut după pulverizarea cu soluție de vanilină 0,20 g în 10 ml acid sulfuric concentrat (7), urmată de încălzire timp de 8 minute la 100°C.

Spectrul de absorbție în infraroșu al uleiului volatil a fost înregistrat cu un aparat Shimadzu I.R. 27 G (domeniu 4 000—400 cm^{-1}). Uleiul volatil a fost transformat în soluție 20% v/v în cloroform, iar înregistrarea s-a făcut prin metoda compensației, utilizînd cuve de clorură de sodiu cu deschiderea de 0,100 mm.

Determinarea totalului fenolic s-a făcut volumetric, prin metoda indirectă, după solubilizarea fracțiunii fenolice prin tratare cu soluție de hidroxid de sodiu în exces (14).

MENȚIUNE

Autorul aduce și pe această cale mulțumiri tov. conf. dr. I. Schwartz și Mioara Bocoș de la Disciplina de chimie fizică a Facultății de farmacie din Cluj, pentru înregistrarea spectrelor de absorbție în infraroșu.

BIBLIOGRAFIE

1. AVRAM M., MATEESCU G. D. — Spectroscopia în infraroșu. Aplicații în chimia organică, Ed. tehnică, București, 1966.
2. GERED-CSEGEDI I. I. — *Farmacia (Buc.)*, 1970, *18*, 485—490.
3. GERED-CSEGEDI I. I. — *Farmacia (Buc.)*, 1971, *19*, (5), 297—302.
4. GERED-CSEGEDI I. I. — Teză de doctorat, Institutul de medicină și farmacie, Cluj, 1971.
5. KALSI P. S. — *Perf. Ess. Oil Rec.*, 1967, *58* (11), 796—805.
6. KRAUS L. J., TRAN-THI-HOANG, NGUYEN-THI-KIM C. — *Cron. chim.*, 1968, 21 Settembre, 25—30.
7. LUCKNER M. — Prüfung von Drogen, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1966.
8. MARRISON L. W. — *J. chem. Soc.*, 1951, 1 614, cit. de Avram M. (1).
9. PENNISI L., DI GIACOMO A. — *Riv. ital. Ess. Prof.*, 1965, 7, 375—7.
10. POPESCU H., POP V., OPFERMANN G. — Rapoarte și comunicări la al VI-lea Congres național de farmacie, 497—498, București, 1973.
11. VERNIN G. — *France Parfums*, 1967, 10 (52), 35—54.
12. WIBERLEY S. E., BUNCE S. C., BAUER W. H. — *An. chem.*, 1960, *32*, 217.
13. * * * — Deutches Arzneibuch, 7 Ausgabe, Akademie Verlag, Berlin, 1965.
14. * * * — Farmacopeea română, Ed. VIII, Ed. medicală, București, 1965.
15. * * * — Pharmacopée française, VIII-e ed., Paris, 1965.
16. * * * — Pharmacopeea Helvetica, editio sexta, 1971.

Articol intrat în redacție la 28.XII.1973.

Indicele de clasificare : 615.32 Thymus vulgaris L.

SUMMARY

H. Popescu — AETHEROLEUM THYMI PRODUCED IN ROMANIA

Three Aetheroleum Thymi samples, taken from the industrial product manufactured in Romania in three different years, by extraction with water vapours from Thymus vulgaris L., were analyzed. The product is a clear, dark yellow fluid, soluble 1 : 2 in ethanol 80°C, with $d_{20} = 0.901$, $n_D^{20} = 1.494$ and $\alpha_D^{20} = -0.4° \ldots -1°$. The main components were identified by thin layer chromatography and interpretation of the infrared spectrum : thymol, bornyl acetate, borneol, p-cimen, 1,8-cineol, limonen, linalool, α-pinen and β-pinen. The total phenol varied between 31.5% and 36% vol.

РЕЗЮМЕ

Гонориус Попеску — AETHEROLEUM THYMI РУМЫНСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

Исследовались 3 приготовленные в различные годы образца Aetheroleum Thymi полученные промышленным путем в Румынии при помощи использования водяных паров из растения Tymus vulgaris. Препарат представляет собой прозрачную темно-желтого цвета жидкость, растворяющуюся в 80° С этаноле с d_{20}=0,901—0,911, n_D^{20}=1,494—1,498 и α_D^{20}=0,4°—1,0°. При помощи тонкослойной хроматографии и при помощи интерпретации инфракрасного спектра были установлены главные компоненты: тимол, ацетат борнила, борниол, р-Симен, 1,8-синеол, лимонен, линалоол, альфа-пинен и бета-пинен. Общий феноловый показатель в пределах 31,5 % и 36 % об.

Contribuții la studiul derivaților cumarinici din Levisticum officinale Koch

Doina Albulescu, Madelena Palade, Maria Dafincescu

Disciplina de farmacognozie, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *Avînd ca punct de plecare utilizarea terapeutică oficinală în unele țări europene, a produsului* radix Levistici *și datele din literatura de specialitate referitoare la prezența unor derivați cumarinici în acest produs vegetal, autorii își propun să efectueze un studiu al compușilor benzo-α-pironici din* Levisticum officinale *Koch. Prin reacția Feigl-Anger-Frehden și cea de formare a compușilor aoxazoici puternic coloranți sînt identificate cumarinele în rădăcină și frunză. Determinarea cantitativă a derivaților cumarinici printr-o metodă fotocolorimetrică, în cele două organe vegetale, conduce la valorile procentuale de 0,106—0,133 g pentru rădăcină și 0,117—0,122 g pentru frunză. Printr-un procedeu citat în literatura de specialitate este obținut un reziduu cristalizat, care, analizat prin cromatografie în strat subțire, separă trei spoturi: umbeliferona, cumarina și al treilea, cu Rf 0,47 (neidentificat). Aplicîndu-se aceeași tehnică de separare cromatografică pentru soluțiile purificate din rădăcină și frunză, este identificată prezența umbeliferonei și a cumarinei în cazul organului subteran, al umbeliferonei și a unei cumarine cu Rf 0,47 (neidentificată) în cazul frunzei.*

Utilizarea terapeutică — oficinală în unele țări europene (1, 2, 3) — a rădăcinii de *Levisticum officinale* Koch, datorită proprietăților sale diuretice, emenagoge, stomachice, carminative și expectorante (4, 5), își găsește motivarea științifică în numeroasele date fitochimice (4,6—12), care în ansamblu oglindesc compoziția complexă a produsului amintit.

În afara unui ulei volatil, a cărui prezență constituie un caracter al familiei *Umbelliferae*, în *radix Levistici* au mai fost puși în evidență acizi orto-dihidroxifenolici (acid clorogenic, acid cafeic) și derivați cumarinici (umbeliferonă, cumarină, bergapten) (4, 6, 7, 11, 12, 13). Cercetări recente afirmă de altfel că derivații de cumarină pot fi considerați compuși frecvent întîlniți în plante aparținînd umbeliferelor (14).

Referințele chimice din literatura de specialitate consultată, utilizarea în medicina tradițională a țării noastre a frunzelor de leuștean ca remediu antihipertensiv, la care se adaugă rezultatele promițătoare ale investigațiilor farmacodinamice preliminare, ne-au determinat să inițiem un studiu chimic al cumarinelor din *Levisticum officinale* Koch, cu atît mai mult cu cît literatura consultată nu menționează prezența compușilor benzo-α-pironici în frunză. Cercetările noastre și-au propus ca obiectiv identificarea, dozarea, izolarea derivaților cumarinici și de-

terminarea prin cromatografie în strat subţire a tipurilor de cumarine dintr-o soluţie extractivă purificată şi din reziduul cristalizat, obţinute din rădăcină şi frunză.

1. IDENTIFICAREA DERIVAŢILOR BENZO-α-PIRONICI

Dintre reacţiile chimice utilizate pentru decelarea derivaţilor cumarinici am folosit reacţia Feigl-Anger-Frehden (15), specifică nucleului lactonic, al cărui principiu constă în transformarea esterilor acizilor carboxilici prin tratarea cu hidroxilamină şi alcalii în acizi hidroxamici, care în prezenţa clorurii ferice formează complecşi de culoare violetă.

Am folosit de asemenea reacţia de formare a compuşilor oxazoici puternic coloraţi, rezultaţi din cuplarea derivaţilor fenolici cu săruri de diazoniu, obţinute prin acţiunea acidului azotos asupra aminelor aromatice în prezenţa acidului clorhidric (16, 17, 18).

Ca material de studiu am utilizat rădăcinile şi frunzele de *Levisticum officinale* recoltate în toamna anului 1972 din localitatea Zăvideni — Vîlcea şi condiţionate după normele obişnuite.

2. DETERMINAREA CANTITATIVĂ A DERIVAŢILOR BENZO-α-PIRONICI

Rezultatele celor două reacţii de identificare fiind pozitive, am considerat necesară determinarea cantitativă a cumarinelor din frunzele şi rădăcinile plantei luată în studiu.

Am folosit o metodă fotocolorimetrică al cărui principiu constă în colorimetrarea complexului rezultat din reacţia derivaţilor cumarinici cu p-nitroanilina diazotată (16—19).

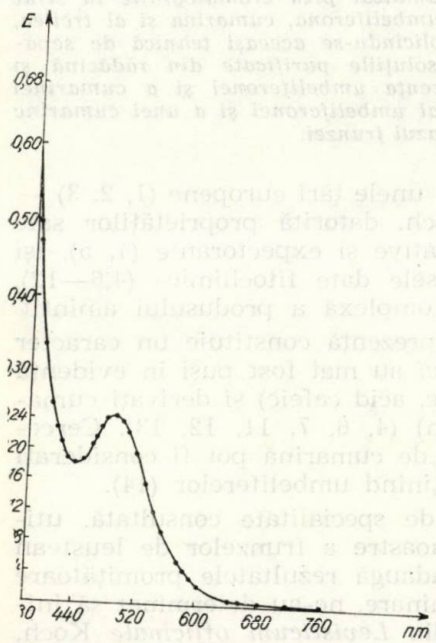


Fig.

a) DETERMINAREA MAXIMEI DE ABSORBŢIE PENTRU CUMARINĂ

Dintr-o soluţie de cumarină 0,004 g% în alcool de 10° am pipetat într-un balon cotat de 50 ml 0,75 ml (0,03 mg cumarină), după care am adăugat 5 ml soluţie Na_2CO_3 7%. După încălzirea în baia de apă 5 minute şi după răcire, am adăugat 5 ml sare de diazoniu, cînd, după o uşoară agitare, soluţia se colorează în roşu smeuriu (20). După completare cu apă distilată la semn, am determinat maxima de absorbţie la fotocolorimetru Spekol (Carl-Zeiss — Jena D.D.R.), cu filtrul verde şi cuva de 1 cm (fig. 1).

b) DETERMINAREA CURBEI ETALON

În baloane cotate de 50 ml am pipetat cîte 0,25, 0,50, 0,75, 1, 1,50 şi 2 ml soluţie 0,004 g% cumarină în alcool de 10°, corespunzînd la 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,06 şi 0,08 mg cumarină, aplicînd în continuare tehnica utilizată pentru determinarea maximei de absorbţie.

Valoarea extincţiilor în funcţie de concentraţie ne-a folosit la stabilirea curbei etalon de extincţie a cumarinei.

În vederea reproductibilităţii acestei curbe etalon, am aplicat calculul statistic (21, 22) (tabelul I) (fig. 2).

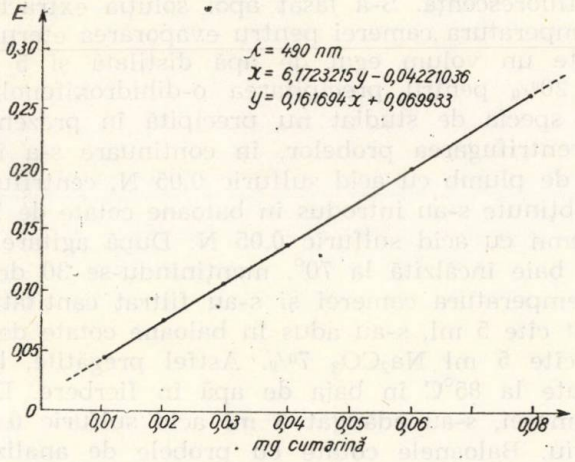


Fig. 2

Tabelul I

Calculul statistic al curbei pentru cumarină

Nr. probei	x mg/ml	x^2	y	y^2	xy	x + y	$(x + y)^2$
1	0,20	0,04	0,0393	0,001544	0,007860	0,2393	0,05726449
2	0,40	0,16	0,717	0,005140	0,028680	0,4717	0,22250089
3	0,60	0,36	0,1046	0,100941	0,062760	0,7046	0,49646116
4	0,80	0,64	0,1350	0,018225	0,108000	0,9350	0,87422500
5	1,20	1,44	0,2030	0,041209	0,243600	1,4030	1,96720900
6	1,60	2,56	0,2650	0,070225	0,424000	1,8650	3,47822500
7	4,80	5,20	0,8186	0,147285	0,874900	5,6186	7,09588554

$x = 0,8$
$\underline{y} = 0,1364$
$\overline{x} = 0,47609$
$\overline{y} = 0,077055$

$r = 0,999$
$x = 6,1723215\ y - 0,04221036$
$y = 0,161694\ x + 0,069933$

c) DETERMINAREA CANTITATIVĂ A DERIVAŢILOR BENZO-α-PIRONICI DIN RĂDĂCINA ŞI FRUNZELE DE *LEVISTICUM OFFICINALE* KOCH

Pentru determinarea cantitativă a derivaţilor cumarinici din rădăcinile şi frunzele de *Levisticum officinale* am preparat soluţii extractive purificate.

Trei probe de cîte 3 g, atît din rădăcinile, cît şi din frunzele plantei studiate, sub formă de pulbere fină, uscate în etuvă la 37° pînă

la pondere constantă, au fost triturate la mojar cu nisip de cuarț 3 g și 7 ml apă distilată. După triturare, probele s-au menținut la 40° timp de o oră, apoi s-a adăugat în cîteva porțiuni un amestec de 5 ml alcool și 10 ml eter etilic. S-a repetat operația de 5 ori, pînă cînd proba n-a mai prezentat fluorescență. S-a lăsat apoi soluția extractivă în repaus 24 de ore la temperatura camerei pentru evaporarea eterului, după care s-a adăugat cîte un volum egal de apă distilată și 5 ml acetat de plumb soluție 20% pentru precipitarea o-dihidroxifenolilor. Derivații cumarinici din specia de studiat nu precipită în prezența ionului de plumb. După centrifugarea probelor, în continuare s-a îndepărtat din soluție excesul de plumb cu acid sulfuric 0,05 N, centrifugînd apoi din nou. Soluțiile obținute s-au introdus în baloane cotate de 100 ml și s-au completat la semn cu acid sulfuric 0,05 N. După agitare, probele s-au introdus într-o baie încălzită la 70°, menținîndu-se 30 de minute, apoi s-au răcit la temperatura camerei și s-au filtrat cantitativ. Din aceste soluții s-au luat cîte 5 ml, s-au adus în baloane cotate de 50 ml, adăugîndu-se apoi cîte 5 ml Na_2CO_3 7%. Astfel pregătite, baloanele s-au încălzit 5 minute la 85°C în baia de apă în fierbere. După răcire la temperatura camerei, s-au adăugat 5 ml acid sulfuric 0,05 N și 5 ml sare de diazoniu. Baloanele cotate cu probele de analizat s-au completat cu apă distilată la 50 ml și s-au colorimetrat la fotocolorimetrul Spekol, filtru verde și cuve de 1 cm, probe în diluție 1/4. Ca lichid de compensație am folosit probe martor preparate în aceleași condiții, dar fără a mai adăuga sare de diazoniu.

Tabelul II

Organul vegetal	Extincția	Derivați cumarinici
Rădăcina	0,1366	0,10600
	0,1708	0,13340
Frunza	0,1525	0,11732
	0,1575	0,12264

Rezultatele obținute prin interpolarea valorilor extincțiilor pe curba etalon a cumarinei sînt redate în tabelul II.

Din datele prezentate în tabelul II rezultă că derivații cumarinici se găsesc în frunze în o cantitate apropiată ca valoare de conținutul rădăcinilor. Literatura menționează dealtfel pentru organele subterane de leuștean un procent variabil de cumarine în funcție de stadiul de dezvoltare și anume o diminuare a acestuia spre sfîrșitul perioadei de creștere (11).

Produsul vegetal utilizat în cercetările noastre fiind recoltat toamna, rezultatele prezentate în tabelul II s-ar putea explica tocmai prin această dinamică de acumulare variabilă în funcție de etapa de dezvoltare a plantei.

3. IZOLAREA DERIVAȚILOR BENZO-α-PIRONICI

Rezultatele dozării ne-au orientat în continuare cercetările spre izolarea derivaților cumarinici, în acest scop folosind următoarea metodă (15, 23) : 130 g produs vegetal (frunze) uscat și mărunțit (IV) s-a supus extracției de 3 ori cu cîte 200 ml acid clorhidric 5 N pe baia de apă în fierbere timp de 30 de minute. Soluțiile extractive apoase reunite s-au extras cu un amestec de eter-cloroform (3 : 1) pînă la reacția Feigl-Anger-Frehden negativă. Soluția etero-cloroformică menținută pe Na_2SO_4

sicc. s-a supus distilării, iar reziduul s-a luat cu mici cantităţi de apă distilată fierbinte. Soluţia apoasă s-a purificat prin defecare cu acetat de plumb, soluţie 20%. Precipitatul s-a îndepărtat prin centrifugare, iar excesul de plumb s-a eliminat cu acid sulfuric 0,05 N, centrifugînd din nou. După neutralizare cu Na_2CO_3 soluţia apoasă s-a epuizat din nou cu amestec de eter-cloroform (3 : 1) pînă cînd reacţia Feigl-Anger-Frehden a fost negativă. După menţinerea pe Na_2SO_4 sicc. soluţia etero-cloroformică s-a supus distilării. S-a obţinut un reziduu cristalizat, cu miros plăcut, în cantitate de 0,397 g, care s-a supus analizei cromatografice.

4. SEPARAREA ŞI IDENTIFICAREA CROMATOGRAFICĂ A DERIVAŢILOR BENZO-α-PIRONICI

S-au analizat cromatografic soluţiile extractive purificate obţinute prin frunză, rădăcină şi reziduul cristalizat, utilizînd ca substanţe de referinţă cumarina şi umbeliferona.

Soluţiile extractive s-au obţinut din cîte 4 g produs vegetal (rădăcină şi frunze), pulverizat (IV), care s-a hidrolizat cu acid clorhidric 5 N timp de 30 de minute. După răcire, soluţia apoasă acidă s-a extras cu un amestec de eter-cloroform (2 : 1, v/v) pînă la reacţia Feigl-Anger-Frehden negativă. După îndepărtarea solventului sub presiune redusă, s-a reluat reziduul cu apă distilată fierbinte şi s-a extras din nou cu eter-cloroform (2 : 1, v/v). După concentrarea soluţiei extractive sub presiune redusă s-a reluat reziduul cu 5 ml acetonă, soluţia acetonică rezultată prin filtrare fiind analizată cromatografic, în paralel cu soluţia ectonică a reziduului cristalizat şi a celor două substanţe etalon. Condiţiile de lucru au fost următoarele (24) :

— faza fixă : silicagel G Merck-celuloză (1 : 1) ;

— faza mobilă : toluen, acetat de etil, acid formic (5 : 4 : 1, v/v) ;

— developarea pe un parcurs de 17 cm ;

— examinarea la U.V. şi după revelare cu sare de diazoniu.

După revelare cu sare de diazoniu cromatoplăcile relevă pentru soluţia obţinută din rădăcină două spoturi colorate în violet, la frunză remarcîndu-se două spoturi de aceeaşi culoare, iar la reziduul cristalizat trei spoturi.

Umbeliferona (Rf = 0,67) este prezentă în toate probele de analizat, iar cumarina (Rf = 0,59) în reziduul cristalizat şi soluţia extractivă din rădăcină.

CONCLUZII

Utilizarea terapeutică — oficinală în unele ţări europene — a produsului *radix Levistici* şi datele din literatura de specialitate referitoare la prezenţa unor derivaţi cumarinici în acest produs vegetal ne-a orientat spre studiul compuşilor benzo-α-pironici din *Levisticum officinale* Koch, concretizat în următoarele :

1. Identificarea cumarinelor în rădăcină şi frunză prin reacţia Feigl-Anger-Frehden şi prin reacţia de formare a compuşilor oxazoici puternic coloraţi.

2. Determinarea cantitativă a acestor compuşi în cele două organe vegetale, conţinutul procentual fiind de 0,106—0,133 g pentru rădăcină şi 0,117—0,122 pentru frunză.

3. Obținerea printr-o metodă citată de literatura de specialitate a unui reziduu cristalizat, care, analizat prin cromatografie în strat subțire conduce la concluzia că este un amestec de cel puțin trei cumarine, una fiind umbeliferona, alta cumarina, a treia, cu Rf-ul 0,47, neidentificată. Aplicînd aceeași tehnică de separare cromatografică pentru soluțiile purificate din rădăcină și frunză s-au identificat prezența umbeliferonei și cumarinei în cazul organului subteran, al umbeliferonei și a unei cumarine cu Rf-ul 0,47, neidentificată în cazul frunzei.

BIBLIOGRAFIE

1. * * * — Deutsches Arzenibuch, ed. a VII-a, Ed. Deutscher Apotheker, Stuttgart-Govi-Frankfurt, 1968, p. 638.
2. * * * — Pharmacopeea helvetica, ed. a V-a, Berna, 1953, p. 853.
3. * * * — Pharmacopoea austriaca, ed. a IX-a, vol. II, Viena, 1960, p. 1 263.
4. STAHL E. — Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen, Ed. Fischer, Stuttgart, 1970, p. 117.
5. DIENER H. — Drogenkunde, Ed. Fachbuch, Leipzig, 1958, p. 50.
6. WEHMER C. — Die Pflanzenstoffe, vol. II, Ed. Fischer, Jena, 1931, p. 887.
7. SWAIN T. — Chemical plant taxonomy, Ed. Academic Press, Londra, 1963, p. 348.
8. KARRER W. — Konstitution und Vorkemmen der organischen Pflanzenstoffe, Ed. Birkhäuser, Stuttgart, 1958, p. 1 318, 1 369.
9. KROEBER L. — Das Neuzeitliche Kräuterbuch, vol. I, Ed. Hippokrates, Stuttgart-Leipzig, p. 226.
10. TSCHIRCH A. — Handbuch der Pharmakognosie, vol. I, Ed. Tauchnitz, Leipzig, 1909, p. 62, 66, 796 ; vol. II — 1917, p. 917.
11. DAUKSHA A. D. — *C. A. (N.Y.)*, 1972, *76* (13), 70136.
12. LADYGINA E. YA., ZORIN E. B. — *Farmatsiya*, 1971, *20*, 5, 32—37.
13. NAVES Y. R. — *Helv. chim. Acta*, 1943, 26, 1 281.
14. LEMMICH J., PEDERSEN P. A., NIELSEN B. E. — *Phytochemistry*, 1971, *10*, 12, 3333.
15. PAECH K., TRACEY M. V. — Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, vol. II, Ed. Springer, Berlin, 1955, p. 583.
16. SULMA T., WIERZCHOWSKA K. — *Acta Pol. Pharm.*, 1963, *20*, 1, 77.
17. MAVRODIN AL., ZOTTA V., OȚELEANU D., CHIRIȚĂ C. — Lucrări practice de chimie organică, I.M.F., București, 1963, p. 196.
18. STAHORSKAYA L. K. — *Apt. Delo*, 1962, *11*, 2, 44.
19. POETHKE W., BULIN P. — *Pharm. Z.*, 1969, *108*, 11, 733—747.
20. PÎSLĂRAȘU N., ABABII R. — *Farmacia (Buc.)*, 1973, *21*, 107, 625.
21. BATUMER L. M., POZIN M. E. — Metoda matematică în tehnică, Ed. tehnică, București, 1956, p. 486.
22. STEINBACH M. — Calculul statistic în medicină și biologie, Ed. Acad. R.S.R., București, 1961, p. 233.

23. CONSTANTINESCU E., PALADE M., GRASU A., ROTARU E. — *Farmacia (Buc.)*, 1969, *17*, 10, 591.

24. PALADE M. — Teză de doctorat, I.M.F., Bucureşti, 1973.

Articol intrat în redacţie la 18.III.1974.

Indicele de clasificare : 615.771.6:615.32 *Levisticum officinalis* Koch

SUMMARY

Doina Albulescu, Madelena Palade, Maria Dafincescu — CONTRIBUTION TO THE STUDY OF COUMARIN DERIVATIVES FROM *LEVISTICUM OFFICINALE* KOCH

Starting from the therapeutical utilization, oficinal in some European countries, of *radix Levestici* and the data in the speciality literature referring to the presence of coumarin derivatives in this vegetal product, the authors proposed to study the benzo-α-pyronic compounds in *Levisticum officinale* Koch. Coumarins were identified in the root and leaves by the Feigl-Anger-Frohden test and by the formation of brightly stained aoxazoic compounds ; quantitative photocolorimetric determinations gave a proportion of coumarin derivatives of 0.106—0.133 g in the roots and 0.117—0.122 g in the leaves. Thin layer chromatography of the crystallized residue, obtained by a procedure described in the speciality literature, separated three spots : umbelliferona, coumarin and a third unidentified spot with Rf 0.47. By chromatographic separation applied to purified solutions of the root and leaves umbelliferona and coumarin were identified in the root solution and umbelliferona and a coumarin with Rf 0.47 (unidentified) in the leaf solution.

РЕЗЮМЕ

Дойна Албулеску, Маделена Паладе, Мария Дафинческу — К ВОПРОСУ КУМАРИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В LEVISTICUM OFFICINALE KOCH

Исходя из того, что некоторых европейских странах корень растения Levisticum применяется в терапевтических — лекарственных целях, а также и данные из литературы по специальнос и относительно содержания некоторых производных в этом растительном препарате, авторы исследовали бензоальфа-пироновые производные, содержащиеся в Levisticum officinale Koch. При помощи реакции Фейгль-Анжер-Фрегден и реакции образования сильно окращиваемых аоксазоивых производных авторы идентифицировали кумарины, содержащиеся в корнях и листьях. Количественное определение кумариновых производных при помощи фотоколориметрического метода, в этих органах растения позволило им установить процентрые отношения равные 0,106—0,133 г—в корне и 0,11.—0,122 г — в листьях. Пользуясь методом, который цитируется в литературе по специальности, авторы получили кристалличесский остаток, который при тонкослойном хроматографическом методе анализа дает 3 отдельных спот-а: умбелиферон, кумарин и третий -(неидентифицированный), обладающий Rf=0,47. Применяя этот же метод хроматографического отделения в отношение очищенных растворов, полученных из корней и листьев, авторы установили наличие умбелиферона и кумарина в подпочвенном органе—корнях и наличие умбелиферона и обладающего Rf=0,47 — кумарина (неидентифицированного — в листьях.

REFERAT

FARMACOVIGILENȚĂ ȘI CONTROLUL CALITĂȚII, **Wolfgang Schlemmer,** Informationsdienst A. P. V., 1974, 20 (4), p. 295—313

Autorii pleacă de la premiza că numai controlul calității medicamentelor nu poate garanta singur securitatea acestora, el reprezentînd numai un aspect parțial și destul de sumar. Ei stabilesc ca etape ale controlului calității următoarele : controlul identității, controlul omogenității, determinarea conținutului, controlul impurităților (a = chimice, b = microbiene, c = de altă natură), controlul proprietăților fizice, controlul stabilității și fixarea condițiilor de conservare, controlul concordanței, cu etaloanele, documentația tuturor cercetărilor.

Se preconizează ca succesiune cronologică să se înceapă cu controlul produsului finit, apoi al intermediarilor și la urmă a materiilor prime și nu invers, deoarece, astfel se poate obține o imagine mai clară în coordonarea și aprecierea rezultatelor. Autorii discută apoi pe rînd metodologiile aplicate la fiecare etapă și relevă importanța cromatografiei în strat subțire pentru controlul identității, la produsele finite și urmărirea identității și la materiile prime folosite inclusiv excipienții.

În privința controlului omogenității se amintește metoda preconizată de U.S.P. XVIII, care prevede controlul așa-zisei „content uniformity", care asigură și o interpretare statistică suficientă. Cîntăririle se pot efectua cu un agregat automat al firmei „Sartorius" care asigură selectarea și cîntărirea, precum și sesizarea devierilor inadmisibile în mod automat, pentru un număr de 2000—3000 de comprimate sau capsule operculate pe zi.

Controlul impurităților este tratat detailat insistîndu-se în special asupra valorii statistice a numărului de probe testate pentru sterilitate și pentru substanțe pirogene.

La controlul proprietăților fizice autorii amintesc în special determinarea vitezei de dizolvare ca factor hotărîtor al absorbției unui medicament administrat pe cale orală, făcînd considerații interesante privind biofarmacia și biodisponibilitatea acestor medicamente.

Acordînd o deosebită importanță controlului sterilității, care se efectuează numai la produsele noi, autorii subliniază în final importanța documentelor care reflectă toate investigațiile făcute și însoțesc fiecare șarjă de produs finit.

I. Cruceanu

Despre agliconul acidului primulic din rădăcina de Primula officinalis

Lucia Grecu, Viorica Cucu

Disciplina de farmacognozie, Facultatea de farmacie, Cluj

REZUMAT *Pentru a verifica observația recentă, după care saponina principală din rădăcina de* Primula officinalis *ar elibera prin hidroliză doi agliconi, primulagenina A și priverogenina A monoacetat, s-a extras acidul primulic din drogul indigen și s-a purificat prin cromatografie pe coloană de silicagel cu eluent n-butanol saturat cu apă. Acidul primulic astfel purificat, a fost supus hidrolizei acide efectuată atît la cald, cît și la temperatură joasă, mediul de hidroliză fiind un amestec de apă și dioxan cu 3% HCl. Urmărindu-se dinamica acestei hidrolize prin cromatografie pe strat subțire s-a observat că atît la cald, cît și la temperatură joasă se formează, în timp, pe lîngă primulagenină A și produșii săi de transformare și alți produși cu Rf-uri mai mici, ceea ce demonstrează că agliconul acidului primulic nu este simplă primulagenină A.*

Saponina principală din rădăcina de *Primula officinalis* L. Hill (sin. *P. veris* L.) numită și acid primulic, a fost izolată pentru prima oară de Kofler (4). Margot și Reichstein (5) au stabilit apoi că agliconul acestei saponine este primulagenina A, iar Bischof și Jeger (1, 2) au demonstrat structura ei triterpenică.

Tschesche și colab. (6), reluînd în ultimii ani studiul saponinelor din rădăcina de *Primula officinalis* au procedat de la început la esterificarea lor cu diazometan. Esterii metilici au fost apoi separați prin cromatografie pe coloană și în felul acesta au obținut dintr-un total comercial de saponine numit Hochviscose (Beiersdorf et Co., A. G. Hamburg) esterul metilic al saponinei principale, care prin hidroliză acidă a eliberat pe lîngă primulagenină A (12-oleanen-3β, 16α, 28-triol) și priverogenină A monoacetat (12-oleanen-3β, 16α, 22β-triol-28-al-16-acetat).

Observația lui Tschesche ne-a determinat să verificăm agliconul acidului primulic obținut din rădăcina de *Primula officinalis* indigenă, de origine certă, printr-un studiu al produșilor de hidroliză similar celui prin care am urmărit transformarea primulageninei A în timpul hidrolizei (3).

S-a lucrat cu rădăcină de *Primula officinalis* recoltată din împrejurimile orașului Cluj. Drogul a fost extras întîi cu acetonă, apoi cu metanol. Din soluția metanolică concentrată, după separarea volemi-

tolului, saponinele au fost precipitate cu acetonă. Din totalul de saponine native, acidul primulic a fost separat prin cromatografie pe coloană de silicagel, cu eluent butanol saturat cu apă.

Acidul primulic astfel obținut, cromatografic pur, cu p.t. 278—285° s-a păstrat așa cum se găsește în stare nativă, sub formă de sare. Prin deplasarea lui cu acid acetic în soluție metanolică și precipitare

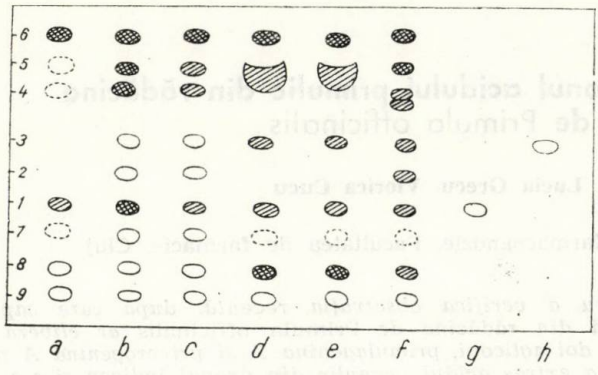


Fig. 1

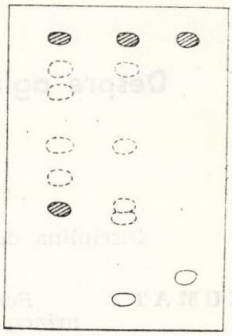


Fig. 2

Fig. 1. — Cromatografia pe strat subțire a produșilor de hidroliză ai acidului primulic :

a) ac. primulic la 30—35° timp de 24 de ore ; b) idem 48 de ore ; c) idem 72 de ore ; d) ac. primulic la reflux timp de 15′ ; e) idem o oră ; f) idem 4 ore ; g) primulagenină A ; h) priverogenină A monoacetat.

Fig. 2. — Cromatografia pe strat subțire a produșilor de transformare din timpul hidrolizei :

a) primulagenină A la 30—35° timp de 24 de ore ; b) idem produsul 9 ; c) idem produsul 8.

cu apă, acidul primulic s-a separat sub formă de pulbere amorfă, albă, cu p.t. 235—237°. În soluția rămasă după separarea lui s-au identificat cu fotometrul cu flacără, cationii Na, K și Ca.

Acidul primulic a fost supus hidrolizei acide cu HCl 3% în amestec de apă și dioxan, atît la cald, cît și la temperatură joasă (30—35°) (3). În ambele cazuri hidroliza a fost urmărită în timp prin cromatografie în strat subțire. S-au obținut pe cromatoplacă mai multe spoturi, unele cu Rf-uri mai mari, altele cu Rf-uri mai mici, ca ale primulageninei A (fig. 1).

Cercetări recente (3) au demonstrat că primulagenina A se transformă în timpul hidrolizei acide în cinci produși cu Rf-uri mai mari, ca Rf-ul ei. Prin hidroliza acidului primulic s-au obținut, în afară de primulagenina A și produșii săi de transformare, și produși cu Rf-uri mai mici. Pentru a verifica dacă produșii cu Rf-uri mai mici ca ai primulageninei A sînt produși inițiali sau de transformare s-au separat preparativ prin cromatografie pe strat subțire și s-au menținut separat în condiții de hidroliză la 30—35° timp de 24 de ore. Fiecare din produșii astfel verificați s-au transformat în produși cu Rf-uri mai mari (fig. 2).

Prin urmare, așa cum a semnalat Tschesche și colab., în acidul primulic din rădăcina de *Primula officinalis,* agliconul nu este simplă primulagenină A.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Extragerea saponinelor. 500 g pulbere de rădăcină şi rizom de *Primula officinalis* s-au extras la reflux timp de 60, 30, 30 minute cu respectiv 2, 5, 1,5 şi 1,5 l acetonă. Materialul vegetal a fost în continuare extras cu 2,5, 1,5 şi 1,5 l metanol, în aceleaşi condiţii. Soluţiile metanolice reunite au fost concentrate sub presiune redusă la circa 100 ml. Prin concentrare s-a format un precipitat alb cristalin, care s-a separat a doua zi prin filtrare (16, 15 g). Filtratul a fost vărsat în fir subţire şi sub agitare în 1,5 l acetonă. Saponina precipitată a fost separată prin filtrare şi uscată în exicator pe Cl_2Ca (75,50 g). Saponina brută a fost dizolvată la cald în 1,5 l metanol. După filtrare soluţia a fost concentrată sub presiune redusă la circa 100 ml. În timpul concentrării o parte din saponină a precipitat şi s-a separat prin filtrare. Filtratul a fost apoi vărsat peste 1,5 l acetonă. Saponina precipitată a fost uscată în exicator (42,50 g).

Cromatografia pe coloană. S-au utilizat coloane de 50 cm lungime şi 4 cm diametru, cu silicagel Merck (0,05—0,20 mm). A fost introdus în coloană cu n-butanol saturat cu apă, 200 g silicagel şi 4 g saponină s-au suspendat la cald în 4—5 ml butanol saturat cu apă, şi s-a introdus deasupra coloanei. Eluent s-a utilizat în n-butanol saturat cu apă. S-au colectat fracţiuni de cîte 5 ml. Cromatografia în strat subţire cu eluent n-butanol, acid acetic, apă (6 : 1 : 3) a permis gruparea lor în patru fracţiuni : 1 500 ml cap, 1 000 ml cu un spot (Rf 0,35), 580 ml cu două spoturi (Rf 0,35 şi Rf 0,25) şi 200 ml cu trei spoturi (Rf 0,35 ;0,25 ; 0,16). Prin precipitare cu acetonă a fracţiunii cu un singur spot s-a obţinut o pulbere albă amorfă (0,5049 g), cu p.t. 278—285° (Boetius).

CONCLUZII

Prin hidroliza acidă a acidului primulic din rădăcina de *Primula officinalis* efectuată atît la cald, cît şi la temperatură joasă, s-au obţinut, pe lîngă primulagenonă A şi produşii săi de transformare, şi alţi produşi, ceea ce demonstrează că agliconul acidului primulic nu este simplă primulagenină A.

BIBLIOGRAFIE

1. BISCHOF B., JEGER O. — *Helv. chim. Acta,* 1948, *31,* 1760.
2. BISCHOF B., JEGER O., RUZICKA L. — *Helv. chim. Acta,* 1949, *32,* 1911.
3. GRECU L., CUCU V. — *Farmacia (Buc.),* 1973, 21, 393.
4. KOFLER L. — *Arch. Pharm.,* 1924, *262,* 318 citat de (5).
5. MARGOT A., REICHSTEIN T. — *Pharm. Acta Helv.,* 1942, *17,* 113.
6. TSCHESCHE R., BOEN TJIONG TJOA, WULFF G. — *Ann. chim.,* 1966, *696,* 160.

Articol intrat în redacţie la 12.II.1974.

Indicele de clasificare : 615.32 *Primula officinalis*

Autorii mulţumesc pe această cale D-lui prof. Tschesche pentru mostrele de primulagenină A şi priverogenină A monoacetat.

SUMMARY

Lucia Grecu, Viorica Cucu — ON PRIMULIC ACID AGLYCON FROM THE ROOT OF PRIMULA OFFICINALIS

In order to check a recent observation according to which the main saponin from the root of Primula officinalis releases by hydrolysis aglycons, primulagenin A and priverogenin A monoacetate, primulic acid was extracted from the indigenous drug and purified by chromatography on silicagel column with an n-butanol eluent saturated with water. The purified primulic acid was subjected to acid hydrolysis both in the heat and at low temperatures, the hydrolysis medium being a mixture of water and dioxan with 3% HCl. Following up this hydrolysis by thin layer chromatography showed that both in the heat and at low temperatures not only primulagenin A is formed but also its products, demonstrating that primulic acid aglycon is not simply primulagenin A.

РЕЗЮМЕ

Лучия Греку, Виорика Куку — К ВОПРОСУ АГЛИКОНА ПРИМУЛОВОЙ КИСЛОТЫ В КОРНЯХ РАСТЕНИЯ PRIMULA OFFICINALIS

Для проверки недавно произведенных наблюдений, согласно которым главный сапонин, содержащийся в корнях Primula officinalis освобождается путем гидролиза из агликонов, примуладенина и моноацетата приверогенина. Авторы извлекалы примуловую кислоту из препарата местного производства и очищали ее при помощи хроматографического метода с использованием колонки силикагеля как воднонасыщенного элуанта n-бутанола.

Очищенная таким путем примуловая кислота была подвергнута кислому гидролизу как в условиях тепла, так и при низкой температуре причем среда гидролиза представляла собой смесь воды и диоксана с 3% соляной кислотой. Исследуя затем динамику этого гидролиза при помощи тонкослойной кроматографии было отмечено как в условиях тепла, так и при низкой температуре образование во времени, наряду с примулогеином А также и его производных, и это доказывает, что агликон примуловой кислоты представляет собой простой примулогеин А.

Cercetări de histoanatomie comparată la specii de Rumex L. Frunza. I. Limbul

Eliza Ghiuru

Laboratorul de botanică farmaceutică, I.M.F. Iaşi

REZUMAT *Cercetările autoarei asupra speciilor genului* Rumex *L. din România au implicat şi studiul comparativ al frunzei, datele din literatură fiind sumare şi neconcludente. În lucrarea de faţă sînt prezentate observaţiile morfo-anatomice asupra limbului foliar la 21 de specii din flora ţării noastre, din localităţi şi staţiuni diferite, ceea ce a dus la notarea unor consideraţii ecologice. S-a urmărit, pe de o parte, elucidarea aspectelor morfo-structurale, iar pe de altă parte prin prezentarea comparativă, aceste caractere vor putea fi utile în taxonomie, în practica farmaceutică, la identificarea drogurilor, cunoscute fiind proprietăţile terapeutice, alimentare, ca şi principiile lor active.*

Produsele vegetale obţinute de la diferite specii de *Rumex* constituie tot mai mult un domeniu de cercetări ştiinţifice datorită diferitelor substanţe pe care le conţin (antraderivaţi, flavonoide, taninuri, cristale minerale, amidon, zaharuri, uleiuri grase etc.). De asemenea sînt cunoscute (1) proprietăţile purgative, bacteriostatice, tonice etc. ale unor specii.

Morfologic, speciile de *Rumex* prezintă puţine caractere diferenţiale, de aceea găsirea unor noi elemente este de dorit. Datele histoanatomice asupra limbului foliar aduse în această lucrare vor putea fi o contribuţie utilă, în acest scop, ştiut fiind faptul că neexactitatea determinării speciilor, respectiv a drogurilor, duce la erori de fond.

Date bibliografice. Din literatura de specialitate rezultă lipsa unui studiu histoanatomic detaliat, comparativ şi ecologic al frunzei la speciile genului *Rumex,* ca şi aspectul ontogenetic. Citînd datele referitoare la studiul limbului, vom aminti pe : Perdrigeat (7), care marchează unele caractere generale fără referire la specie, menţionînd : „limbul oferă o structură destul de omogenă, faţa inferioară este lacunoasă şi faţa superioară uşor palisadică" ; Dammer (2) caracterizează mezofilul ca fiind alcătuit din 2—4 straturi de celule, „parenchimul palisadic adesea dezvoltat, ca şi ţesutul acvifer" ; Saget (10) tratează în mod tangenţial structura limbului la speciile *R. crispus* şi *R. obtusifolius ;* Gross (5) prezintă comparativ structura frunzelor la diferite genuri din familia Polygonaceae ; precizează că construcţia frunzelor este bifacială, formată aproape fără excepţie din 2—4 straturi de palisadă ; Metcalfe şi Chalk (6), sintetizînd datele existente, menţionează observaţiile lui Gross, acestea fiind pînă în acel timp cele mai bogate.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-a analizat limbul foliar la 21 de specii (din cele 25 existente) din flora ţării noastre (8) : *R. acetosella* L., *R. acetosa* L., *R. thyrsiflorus* Fingerh., *R. Tuberosus* L., *R. arifolius* All., *R. scutatus* L., *R. domesticus* Hartm., *R. crispus* L., *R. hydrolapathum* Huds., *R. confertus* Willd., *R. patientia* L., *R. orientalis* Bernh., *R. alpinus* L., *R. conglomeratus* Murray, *R. sanguineus* L., *R. Kerneri* Borb., *R. stenophyllus* Ldb., *R. pulcher* L., *R. obtusifolius* L., *R. maritimus* L., *R. limosus* Thuill (celelalte părţi foliare urmînd a fi prezentate în alte note).

Materialul a fost obţinut prin recoltarea plantelor spontane sau prin semănare, fiind în stadiu de înflorire. Plantele spontane provin din numeroase localităţi pentru aceeaşi specie ca şi din staţiuni diferite. În felul acesta a putut fi delimitată structura caracteristică, ştiut

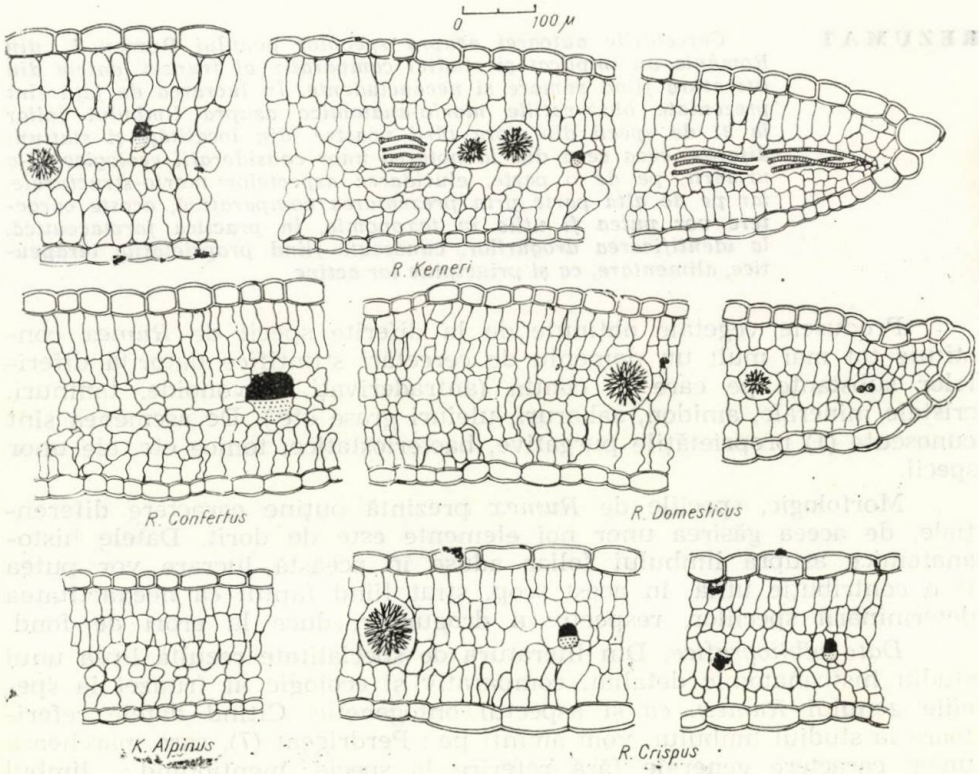


Fig. 1

fiind faptul că frunza este organul cel mai plastic, care poate suferi modificări sub influenţa mediului. Totodată, pentru a urmări menţinerea caracterelor morfo-structurale specifice, s-a procedat la semănarea şi recoltarea materialului pe o perioadă de 4 ani.

Observaţiile au implicat secţiuni la microtomul de mînă sau parafină, iar desenele s-au lucrat la microscop după imaginile obţinute cu Projectionszeichenspiegel (VEB, V. Zeis, Jena), fiind însoţite de scara microscopică.

REZULTATE

Speciile de *Rumex*, cele mai multe perene, fiind observate în dezvoltarea lor de la plantulă pînă la fructificare, s-au putut diferenția următoarele stadii (3) : de rozetă (în primul an de vegetație), de creștere și dezvoltare a tulpinii florifere și de rozetă hibernală. Legat de aceste stadii am denumit și frunzele : 1) frunze în stadiu de rozetă ; 2) caulinare ; 3) hibernale. Aceste frunze au forme asemănătoare, dar

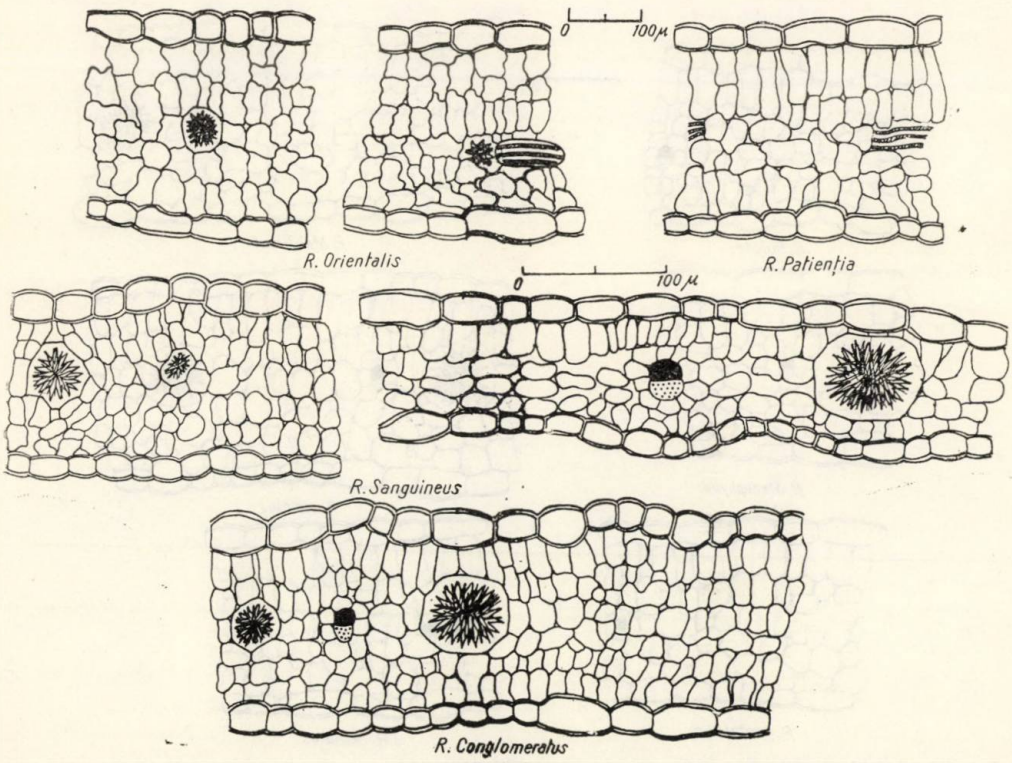


Fig. 2

diferă ca dimensiuni. Astfel, cele mature din rozetă sînt mari ca și cele bazale, caulinare. Frunzele tulpinale sînt treptat mai mici spre vîrful tulpinii. Frunzele hibernale sînt mici, de culoare verde pal. O frunză matură este alcătuită din peţiol, limb și anexa foliară — ochreea.

Morfologie : Limbul este simplu, de *forme* diferite, care se încadrează în două grupe (8) ce coincid cu secțiunile respective : 1) frunze hastate sau sagitate, în care se includ speciile secției I și II ; 2) frunze cu baza cordată, trunchiată, rotunjită sau contrase în peţiol pentru speciile secției III și IV. *Dimensiunile* limbului pot varia în limite largi după specii, de pildă : la *R. hydrolapathum* (cu frunzele cele mai lungi) ating pînă la 1 m lungime, iar la *R. acetosella* 1,5—4. Adesea, chiar și în cadrul speciilor apar variații în funcție de staţiunile sau condițiile ecologice dintr-o perioadă de vegetație dată, fapt care îngreuiază adesea delimitarea taxonomică. La plantule, prima frunză rămîne

mai mică şi are o formă mai rotunjită. Treptat se conturează forma caracteristică a speciei respective : primele două frunze mai mici cad curînd. *Marginea* frunzelor întregi poate fi : dreaptă sau uşor ondulată, pînă la foarte mult ondulat-crispulă *(R. crispus);* uneori cu auricule simple *(R. acetosa),* sau fidate *(R. thyrsiflorus);* frunze de lobi bazali fidaţi la *R. acetosella. Nervaţiunea* este penată, cu o nervură mediană principală, dezvoltată. De la acestea pornesc nervurile secundare paralele, ce străbat aproximativ 3/4 din fiecare jumătate a limbului. În

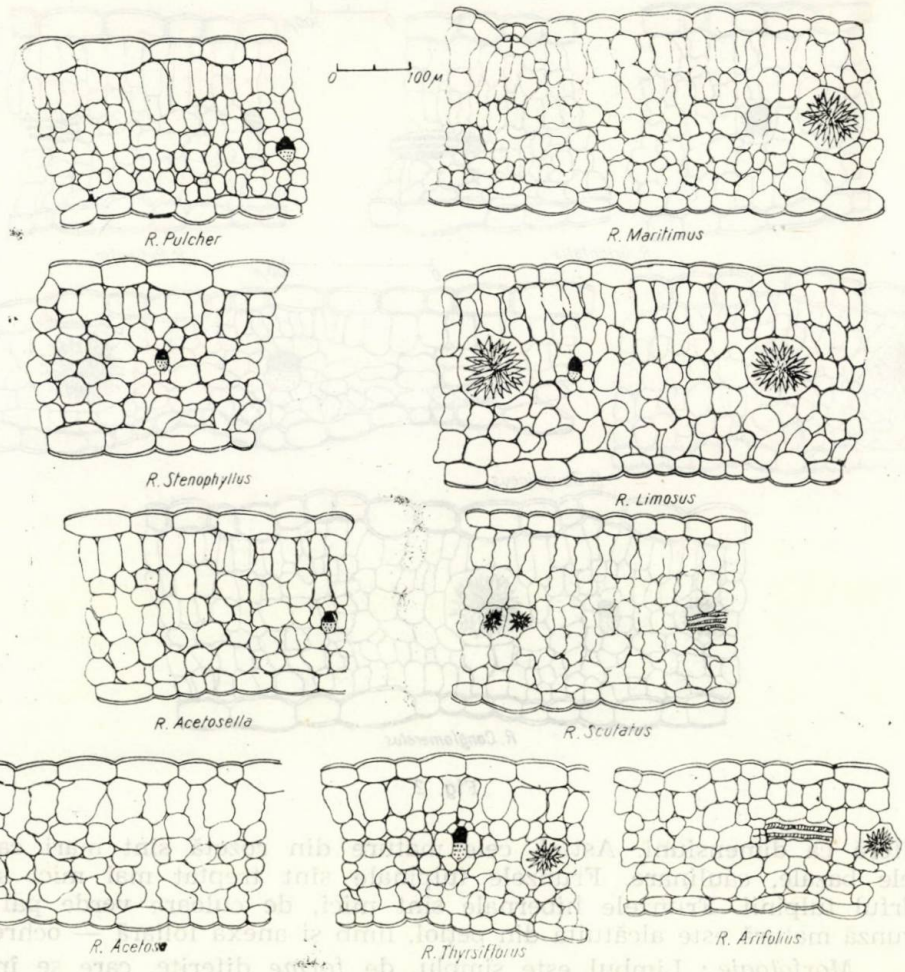


Fig. 3

continuare, spre marginea limbului ele se ramifică şi se anastomozează sub forma unei reţele cu ochiuri mai mult sau mai puţin regulate, de formă pătrată, mai mari sau mai mici, după specie şi dimensiunea frunzei. Între nervurile paralele se produce şi aici o anastomozare a ramificaţiilor celor mai mici. Această nervaţiune asemănătoare la toate speciile analizate ar putea constitui un caracter de gen.

Grosimea. Limbul este subțire, dar poate fi gros (*R. hydrolapathum, R. patientia* etc.).

Pilozitatea este caracteristică pentru puține specii în ceea ce privește perii tectori, iar cei secretori sînt frecvent întîlniți (4).

Anatomia. Structura limbului foliar, analizată de asemenea la fiecare specie, se prezintă printr-o expunere succintă și comparativă, în care se dau caracterele generale, cu precizarea tipului și menținerea elementelor specifice. Astfel, trăsăturile diferențiale sînt mai bine reliefate.

Epiderma este unistratificată. În secțiune transversală, celulele sînt de formă dreptunghiular-rotunjită, eliptice, ușor alungite paralel cu lățimea limbului, alteori mult alungite. Mărimea este variabilă, pot alterna celule foarte mari cu celule mici. Pereții externi și interni sînt ușor bombați și îngroșați, celulozici ; cei laterali sînt subțiri. Uneori, în pereții externi se pun în evidență pături cuticulare subțiri. La suprafață, cuticula are ondulații slabe sau acestea lipsesc.

Mezofilul. Cele mai multe specii se încadrează în structura bifacială, dorsi-ventrală cu tendință către ecvifacială (izobilaterală) sau tipul III, al lui Roth (9), „tip de trecere între cel ecvifacial și bifacial la care parenchimul palisadic al părții inferioare este mai slab dezvoltat". La acest tip se includ speciile *R. confertus, R. domesticus, R. alpinus, R. patientia, R. sanguineus, R. conglomeratus, R. marritimus, R. limosus, R. scutatus, R. acetosa, R. tuberosus, R. crispus.* Pornind de la acest tip, structura mezofilului uneori se apropie mai mult de tipul ecvifacial ca la : *R. hydrolapathum, R. kerneri* sau de tipul *dorsi-ventral : R. obtusifolius, R. pulcher, R. acetosella.* Apropierea de un *tip omogen* găsim la *R. setnophyllus, R. thyrsiflorus, R. arifolius, R. orientalis.*

Tipul dorsi-ventral ecvifacial este alcătuit din : o palisadă situată sub epiderma superioară, formată din 1—2 straturi de celule alungite, cilindrice, perpendiculare pe epidermă, fără spații sau cu mici meaturi. Cînd este alcătuită dintr-un singur strat, celulele sînt mai lungi, iar la două straturi ele apar mai scurte, mai late și se sprijină sau se îmbucă una cu cealaltă. Pot coexista și ambele tipuri în lungul aceleiași palisade. Sub epiderma inferioară se află o palisadă alcătuită dintr-un strat de celule, mai rar două. Celulele sînt pătratice sau alungite în aceeași direcție ca și celulele palisadice, cu mici spații aerifere, adesea legate între ele prin excrescențe laterale, ceea ce le imprimă forme diferite, uneori asemănătoare literelor T, H, L ; cînd sînt două straturi, celulele corespund de la unul la celălalt. Țesutul intermediar este alcătuit din celule izodiametrice rotunjite, ovale, cu meaturi mai mari. Odată cu accentuarea structurii ecvifaciale, subpalisada este alcătuită din două straturi și mai bine conturată.

Structura dorsi-ventrală este caracterizată prin țesut palisadic și lacunos, acesta din urmă avînd celulele rotunde, alungite în sensul lățimii foliolei sau ușor lobate, cu spații intercelulare mari.

Tipul omogen rezultă din scurtarea celulelor palisadice, care devin oarecum asemănătoare celor din subpalisadă.

Grosimea limbului poate varia între 4 și 6 straturi de celule. Uneori, celulele posedă pereți mai mult sau mai puțin sinuoși (*R. acetosella, R. scutatus, R. acetosa, R. kerneri, R. orientalis* etc.). În mezo-

fil se găsesc obișnuit celule mari și foarte mari, poligonale cu cîte un cristal de oxalat de Ca sub forma unui ursin mare. Fasciculele vasculare laterale de dimensiuni variabile sînt înconjurate de o teacă parenchimatoasă monostratificată.

Spre vîrful frunzei se accentuează structura ecvifacială. Marginea limbului foliar este delimitată prin celule mai mari, dintre care celula terminală (în secțiunea transversală) este cea mai voluminoasă, urmată de cele două situate de o parte și alta. De asemenea, la aceste celule îngroșarea pereților externi ca și ornamentațiile cuticulei sînt mai puternice. Structura limbului cu celule tot mai mici și tendință de palisadă continuă și către marginile limbului.

Nervura mediană este o continuare a pețiolului, dar avînd celulele parenchimatoase mai mici, ca și meaturile. Fasciculele conducătoare au o structură asemănătoare, spre vîrful frunzei rămînînd doar două fascicule mediane, opuse ; arcurile de la cei doi poli sînt totdeauna celulozice. Cuticula este mai subțire și cu relief mai slab. La fața abaxială, nervura mediană este mult proeminentă, păstrînd de regulă forma feței inferioare a pețiolului ; fața adaxială este puțin evidentă.

La frunzele cu nivelul de inserție diferită, de la bază către vîrf se observă o tendință de la o structură mai laxă către una mai compactă, ecvifacială, la frunzele din vîrf.

În legătură cu modificările frunzei, față de condițiile de mediu am regăsit o gamă de variații structurale din care vom menționa pe cele mai importante. Astfel, grosimea limbului se poate reduce prin numărul de straturi și volumul celulelor ; aceasta pentru frunzele crescute într-un regim redus de apă sau la cele de la umbră, după cum s-a observat la speciile : *R. hydrolapathum, R. obtusifolius, R. crispus, R. sanguineus* și altele. Structura dorsi-ventrală a limbului poate oscila adesea către cea ecvifacială sau omogenă, ca la *R. orientalis, R. sanguineus,* după condițiile staționare sau orientarea frunzei.

CONCLUZII

S-au efectuat cercetări morfo-anatomice asupra limbului foliar la 21 de specii de *Rumex L.* din flora țării noastre.

Morfologic, se fac precizări asupra formei, dimensiunilor, marginii, nervațiunii, grosimii.

Anatomic, analizîndu-se structura limbului, se delimitează tipurile respective, putîndu-se înscrie în tipul dorsi-ventral cu tendință către ecvifacial, uneori cu trecere spre ecvifacial, omogen sau dorsi-ventral tipic.

Se grupează speciile după structura respectivă, ceea ce constituie elemente diferențiale, utile în practica farmaceutică, în taxonomie etc. Studiul contribuie totodată la elucidarea aspectului structural pentru limbul foliar la specii ale genului *Rumex.*

Contribuția noastră rezultă din importanța tot mai mare pe care o capătă drogul vegetal rezultat din speciile de *Rumex* prin diferitele principii active pe care le conțin, ca și a posibilităților de utilizare în industria farmaceutică, în alimentație etc.

BIBLIOGRAFIE

1. ADAM L. — Contribuţii la studiul farmacognostic al plantei *R. alpinus* L., Teză de doctorat, I.M.F. Cluj, 1964.
2. DAMMER U. — Polygonaceae, in Engler und Prantl, Pflanzenfam., 1893, III, 1, abt. a 2—5.
3. GHIURU ELIZA — Cercetări histoanatomice asupra aparatului vegetativ al speciilor genului *Rumex* L. din R.S.R., sub raport ontogenetic, comparativ şi ecologic, Teză de doctorat, I.M.F. Iaşi, 1973.
4. GHIURU ELIZA — Consideraţii asupra sistemului pilos, Comunicare la Sesiunea ştiinţifică a I.M.F. Iaşi, 1973.
5. GROSS H. — Beiträge zur Kenntnis der Polygonaceen, *Bot. Jahrb.*, 1913, 49, 234—339.
6. METCALFE R. C., CHALK L. — Anatomy of the Dicotyledons, Vol. II, Oxford, 1957.
7. PERDRIGEAT C. A. — Anatomie comparée des Polygonées, Thèse, Paris, 1899.
8. PRODAN I. — Flora R.P.R., vol. I, 1952, p. 380—425.
9. ROTH I. — Histogenese der äquifazialen Blätter einiger Strand und Dünenpflanzen, *Flora*, 1961, vol. II, 150, 1, p. 95—116.
10. SAGET P. — Du fer et de l'étude anatomique des Rumex crispus et obtusifolius, Thèse, *Montpellier*, 1903.

Articol intrat în redacţie la 14.III.1974.

Indicele de clasificare : *615.32 Rumex L.*

SUMMARY

Eliza Ghiuru — COMPARATIVE HISTOANATOMY OF RUMEX L. SPECIES. THE LEAF. I. THE LIMB

Investigations on Rumex L. species in Romania led the author to a comparative study of the leaves. The present paper is a study of the morphoanatomic features of the foliar limb in 21 Rumex species collected in various regions of the country. Ecologic relations are likewise discussed. Comparative presentation of the morphostructural aspects, as shown by the author, may be useful in taxonomy, pharmaceutical practice and the identification of Rumex products, in view of their known therapeutical and alimentary properties and active principles.

РЕЗЮМЕ

Элиза Гиуру — ИССЛЕДОВАНИЕ В ОБЛАСТИ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГИСТОАНАТОМИИ ВИДОВ RUMAX L. ЛИСТЬЯ. СРЕДНЯЯ ЧАСТЬ ЛИСТА

Исследования, осуществленные автором относительно видов рода Rumax L. существующих в Румынии, обусловили также и сравнительное исследование листье этого растения, так как данные, существующие в литературе являются общими и неубедительными. В статье автор излагает свои анатомо-морфологические наблюдения относительно средней части листьев 21 вида этого Румынии растения в — в различных местностях и исследовательских станциях, что позволило формулировать также и некоторые экологические выводы. Автор исследовала, с одной стороны, структурно морфологические аспекты, а, с другой стороны, — путем сравнения — устанавливала особенности, которые могут быть использованы с точки зрения таксономии и аптечной практики для идентификации соответствующих препаратов, имея в виду их терапевтические, алиментарные свойства, а также и активные начала.

REFERAT

CONTROLUL BACTERIOLOGIC AL PREPARĂRII APEI DEMINERALIZATE, **Nadler Viktorné,** Gyógyszerészet, 1974, *18*, 294—299

Autoarea porneşte de la constatarea că deşi schimbătorii de ioni folosiţi în unităţile de producţie mijlocii şi în farmacii produc o apă clinic pură controlată conductometric, ei nu asigură şi o calitate ireproşabilă din punct de vedere microbiologic. Chiar şi în cazul unei ape de conducte de bună calitate, în intervalul de nefuncţionare a baloanelor schimbătoare de ioni poate avea loc o creştere a numărului de germeni. Din acest motiv pentru fiecare dispozitiv de schimbători de ioni este indispensabilă o respectare întocmai a condiţiilor de funcţionare.

În cazul aparatului Herco-Destillo s-a constatat de asemenea după o pauză de funcţionare de 5—6 zile, un număr de germeni crescut. Flacoanele rezistente ale aparatului furnizau însă şi după o pauză de 24—48 de ore o apă ireproşabilă, dacă în prealabil s-a îndepărtat un volum de apă demineralizată egală cu capacitatea vasului. Totuşi pericolul contaminării microbiene accidental este posibilă şi în aceste cazuri. Folosirea filtrelor-membrană Santorius micşorează acest pericol la minimum. Dacă la dispozitivul aparatului se conexează un filtru de tip SM 165—98 (filtru-membrană cu filtre de sticlă cu 0,45 microni) se poate obţine întotdeauna o apă de calitate ireproşabilă (libero de Coli, cu un număr de germeni sub 10/ml). Această apă îndeplineşte în toate cazurile toate pretenţiile care se pun unei ape potabile de bună calitate. Capacitatea aparatului Herco-Destillo trebuie să fie astfel aleasă, ca ea să asigure epuizarea coloanei, după o funcţionare de două săptămîni.

I. Cruceanu

Studiul chimic al uleiului eteric obținut din rășina de Picea excelsa

H. Rothbächer, L. Oprei, L. Dinu, C. Iftimie, I. Czellecz

Universitatea din Brașov, Disciplina de chimie vegetală

REZUMAT *Uleiul eteric rezultat din rășina de* Picea excelsa *a fost fracționat și analizat cromatografic și spectroscopic. Din cei 11 componenți monoterpenici separați s-au identificat trei hidrocarburi terpenice monociclice, patru hidrocarburi terpenice biciclice și trei combinații terpenice oxigenate.*

Uleiul eteric conținut în rășina coniferelor poartă denumirea de ulei de terebentină și poate fi separat prin antrenare cu vapori de apă. Compoziția chimică a acestei părți volatile a rășinilor de conifere variază foarte mult în funcție de specia botanică, condițiile de sol, climă etc. Se înregistrează o variație privind compoziția chimică a uleiurilor eterice din diferitele specii de conifere din diferite țări.

Uleiul de terebentină de proveniență românească, încă nu este perfect cunoscut din punctul de vedere al compoziției chimice. Există puține lucrări care s-au preocupat de compoziția chimică a uleiului de terebentină românesc (1—3), fapt care a determinat și acest studiu.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Rășina de conifere supusă cercetării în prezenta lucrare a provenit din județul Covasna și a fost recoltată în anul 1973 din *Picea excelsa*. Prin antrenare cu vapori de apă am separat din 1 400 g rășină 48 g ulei volatil ceea ce corespunde unui randament de 3,4%.

Uleiul brut cu deviația specifică de $(\alpha)_D^{20}$ $-26,4°$ și indice de refracție $n_D^{20} = 1,4724$ a fost supus unei distilări fracționate. La o presiune de 8—10 torri și la o temperatură de distilare cuprinsă între 51—75°C au fost colectate 5 fracții de distilare.

Întrucît atît deviația specifică, cît și indicele de refracție furnizează date importante privind compoziția chimică a fracțiilor separate, acestea au fost analizate cu un refractometru de tip Abbe și un polarimetru, folosindu-se un tub de 1 dm lungime și lampă de sodiu.

Variația indicelui de refracție și a deviației specifice în funcție de volumul de ulei eteric distilat este redată în fig. 1.

Cele cinci fracţii de distilare au fost în continuare supuse cromatografiei în strat subţire (4). Prin folosirea anumitor substanţe pure-etalon şi prin determinarea distanţelor de migrare (5) exprimate prin valoare R_F, care reprezintă raportul dintre distanţa de migrare a substanţei faţă de distanţa de migrare a solventului, s-a putut identifica majoritatea componenţilor. La aceste experienţe s-au utilizat drept revelator două soluţii : revelatorul I, fiind format dintr-o soluţie 1% vanilină în acid sulfuric concentrat, iar revelatorul II, dintr-o soluţie 20% pentaclorură de stibiu în tetraclorură de carbon. Eluţia a fost realizată cu benzen, iar pe stratul subţire format din pulbere de silicagel + sulfat de calciu (9 : 1) (diametrul particulelor 0,06 mm) s-au aplicat fracţiile de distilare sub formă de soluţii benzenice 1% (6).

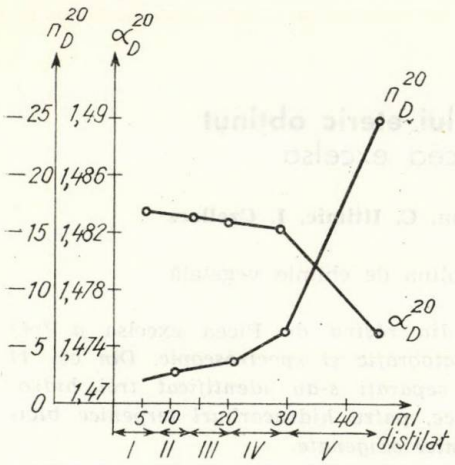


Fig. 1. — Variaţia indicelui de refracţie şi a deviaţiei specifice în funcţie de volumul uleiului eteric distilat.

Tabelul I cuprinde reacţiile de culoare la 25°C şi la 110°C (după ce în prealabil straturile subţiri au fost tratate cu revelatorul I şi II) pentru componenţii terpenici separaţi din cele cinci fracţii de distilare.

În scopul obţinerii datelor suplimentare privind compoziţia fracţiilor de distilare am efectuat spectrele în U.V. arătate în fig. 2. Absorbţia în U.V. s-a realizat cu un aparat VSU-1 Zeiss-Jena prin întrebuinţarea unor soluţii de 0,05% ulei în alcool etilic absolut.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Fracţiile rezultate prin distilarea în vid a uleiului de terebentină brut au un conţinut diferit în combinaţii terpenice. Atît constantele fizico-chimice, cît şi spectrele U.V. au furnizat date valoroase privind compoziţia în hidrocarburi terpenice ale fracţiilor I—IV. La fracţia V apar proprietăţi diferite ceea ce pledează pentru o compoziţie distinctă.

Se înţelege că absorbţia în U.V. redată prin spectre se referă la absorbţia totală a tuturor componenţilor aflaţi în fracţie, de aceea nu apar benzi de absorbţie bine delimitate. Se pot bine observa absorbţii asemănătoare la unele fracţii şi absorbţii distincte la altele ; astfel, se înregistrează absorbţii diferite mai ales la fracţia V.

Prin intermediul cromatografiei în strat subţire, prin reacţiile de culoare diferenţiate şi proprietăţile de absorbţie specifice exprimate prin valori R_F s-a constatat că primele două fracţii de distilare conţin numai hidrocarburi terpenice ; în fracţiile III—IV apare pe lîngă α-pinen, respectiv limonen şi 1,8-cineol, acestea avînd deci o compoziţie asemănătoare. Fracţia V are o compoziţie mai complexă ; alături de hidro-

carburi terpenice monociclice şi biciclice se pot observa şi cantităţi apreciabile de acetat de bornil, α-terpineol şi 1,8-cineol.

Cu ajutorul unor substanţe de referinţă s-a reuşit să se identifice 10 componenţi terpenici din cei 11 separaţi.

Tabelul I

Reacţiile de culoare pentru componenţii terpenici separaţi din funcţiile de distilare

Fracţia de distilare	Valoarea R_F	Culoarea cu revelatorul I		Culoarea cu revelatorul II		Component terpenic identificat
		25°C	110°C	25°C	110°C	
I	0,77	cărămiziu	roşu-violet	galben	gri-brun	α-Pinen
	0,75	roşu-gălbui	roşu-violet	gălbui-brun	brun	Camfen
	0,44	albăstrui	violet	gălbui	brun-gri	Limonen
II	0,78	violet	albăstrui	roşu-carmin	brun	Δ^3-Caren
	0,77	cărămiziu	roşu-violet	galben	gri-brun	α-Pinen
	0,76	roşu-violet	violet	galben	maron	β-Pinen
III	0,77	cărămiziu	violet	galben	gri-brun	α-Pinen
	0,44	albăstrui	violet	gălbui	brun-gri	Limonen
	0,38	roşu-violet	albastru	galben-brun	brun	Cineol
IV	0,77	cărămiziu	violet	galben	gri-brun	α-Pinen
	0,44	albăstrui	violet	gălbui	brun-gri	Limonen
	0,38	roşu-violet	albastru	galben-brun	brun	Cineol
V	0,80	albăstrui	gri-albastru	galben-brun	gri-brun	α-Felandren
	0,76	violet	gri	roşu-brun	brun	α-Terpinen
	0,57	violet	albăstrui	galben-brun	gri-brun	Acetat de bornil
	0,50	violaceu	violaceu	brun	brun	necunoscut
	0,44	albăstrui	violet	gălbui	brun-gri	Limonen
	0,38	roşu-violet	albastru	galben-brun	brun	Cineol
	0,24	roz	violet	brun	brun	α-Terpineol

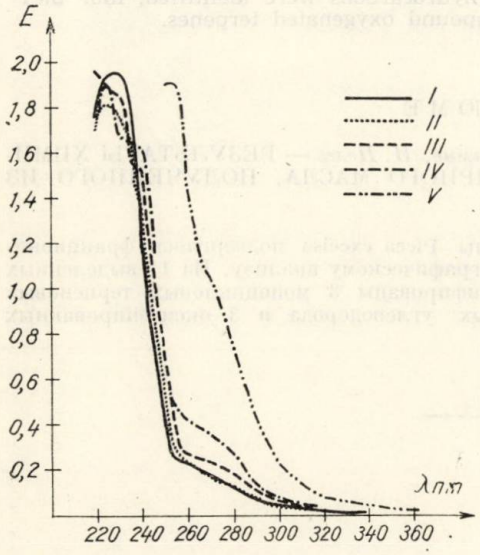


Fig. 2. — Spectrele U.V. ale fracţiilor de distilare.

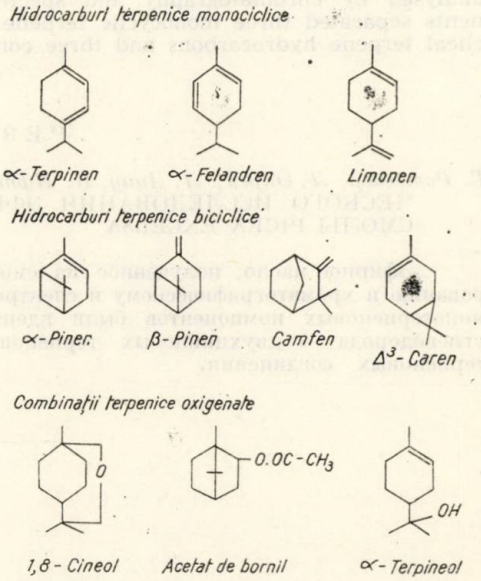


Fig. 3. — Combinaţiile terpenice identificate în uleiul eteric din *Picea excelsa*.

Combinaţiile terpenice identificate în lucrarea de faţă au următoarele structuri redate în fig. 3.

CONCLUZII

Prin antrenarea cu vapori de apă a răşinii colectată din *Picea excelsa* s-a obţinut un ulei de terebentină în care s-au identificat 10 componenţi terpenici. Prin fracţionarea uleiului eteric s-au separat hidrocarburile terpenice mai volatile de combinaţiile terpenice oxigenate.

Datorită conţinutului în componenţi valoroşi acest ulei de terebentină poate fi folosit cu succes în diferite ramuri industriale pentru diferite scopuri.

BIBLIOGRAFIE

1. MATEI I., COCEA E. — *Bul. Inst. polit. Iaşi*, 1948, *3*, 416.
2. BODEA C., TAMAS V., KOLOSY E. — *Rev. chim. (Buc.)*, 1956, *7*, 432.
3. ROTHBÄCHER H., KRAUS A., ŞUTEU F., RISCUŢĂ S. — Pharmazie, *23*, 1968, 263.
4. ROTHBÄCHER H., CRIŞAN C., BEDÖ E. — *Farmacia (Buc.)*, 1964, 12, 733.
5. MARTINEK A. — *Planta med. (Stuttg.)*, 1969, *17*, 20.
6. ROTHBÄCHER H., ŞUTEU F., KRAUS A. — *Planta med. (Stuttg.)*, 1967, *15*, 434.

Articol intrat în redacţie la 13.V.1974.

Indicele de clasificare : 615.32 *Picea excelsa*

SUMMARY

H. Rothbächer, L. Oprei, L. Dinu, C. Iftimie, I. Czellecz — THE CHEMICAL STUDY OF ETHER OIL OBTAINED FROM PICEA EXCELSA RESIN

The ether oil obtained from the resin of *Picea excelsa* was separated and analysed by chromatography and spectroscopy. Of the 11 monoterpene components separated three monocyclic terpene hydrocarbons were identified, four bicyclical terpene hydrocarbons and three compound oxygenated terpenes.

РЕЗЮМЕ

Г. Ротбекер, Л. Опрей, Л. Дину, К. Ифтимие, И. Целес — РЕЗУЛЬТАТЫ ХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФИРНОГО МАСЛА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ СМОЛЫ PICEA EXCELSA

Эфирное масло, полученное из смолы Picea excelsa подверглось фракционированию и хроматографическому и спектрографическому анализу. Из 11 выделенных монотерпеновых компонентов были идентифированы 3 моноцикловых терпеновых углеводорода, 4 двухцикловых терпеновых углеводорода и 3 оксигенированных терпеновых соединения.

Contribuții la studiul farmacognostic al florilor și fructelor speciei Rhus typhina L.

Nadejda Pîslăraşu, Cecilia Mircea
Disciplina de Farmacognozie, Facultatea de Farmacie, Bucureşti.

REZUMAT *Utilizarea florilor şi fructelor speciei* Rhus typhina L., *fam.* Anacardiaceae *în medicina populară folosită pentru tratamentul icterului a determinat iniţierea unui studiu farmacognostic, care a condus pe autori la: stabilirea caracterelor anatomice ale florilor şi fructelor; identificarea unor constituenţi chimici (fitosteroli, carotinoide, cumarine, saponozide, heterozide cardiotonice, alantoină, taninuri, flavonozide, antocianozide şi oze reducătoare); separarea şi identificarea cromatografică a cinarinei (Rf = 0,34) şi a acidului 1-3 dicafeil-chinic (Rf = 0,22); dozarea spectrofotometrică a totalului de constituenţi orto-dihidroxifenolici exprimaţi în cinarină (21,3 g% în floare şi 7,5 g% în fruct) şi la izolarea cinarinei p.t. = 225°C şi a unei fracţiuni purificate cu heterozide cardiotonice.*

Ţinînd seama de faptul că florile şi fructele plantei *Rhus typhina* L. (oţetar) din familia *Anacardiaceae,* cultivată la noi ca arbust ornamental, sînt folosite empiric în unele regiuni ale ţării noastre sub formă de infuzie, decoct şi macerate apoase sau hidroalcoolice diluate în cazurile de icter *, ne-am propus identificarea, dozarea şi izolarea constituenţilor, care ar justifica această acţiune.

Din literatura de specialitate consultată, reiese că în general, toate speciile de *Rhus* conţin galotaninuri, fără a se preciza constituenţii chimici răspunzători de utilizarea plantei în medicina populară (1).

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Studiul histologic s-a efectuat pe materialul vegetal în stadiu de înflorire (iunie) şi de fructificare (octombrie) colectat din Parcul Floreasca şi Grădina Botanică a Universităţii din Bucureşti.

Secţiunile transversale au fost examinate în reactivul Steimetz (9), iar pulberile respective în soluţie de cloralhidrat (R) şi floroglucină clorhidrică (R).

Din studiul histologic efectuat pe piese florale (fig. 1), reiese că acestea se caracterizează printr-o epidermă a caliciului, prevăzută cu numeroşi peri tectori foarte dezvoltaţi, fin striaţi, alcătuiţi din 1—3 celule (a), peri monoglandulari, cu piciorul unicelular (b) şi peri glandulari cu piciorul alcătuit din 1—3 celule şi glanda pluricelulară etajată (c), stomatele fiind de tip ranunculaceu (d).

* Roman Mariana.

Petalele prezintă o epidermă papiloasă prevăzută cu striuri cuticulare și peri tectori uni- și pluricelulari, fin striați (e). Polenul, avînd exina cu fine ornamentațiuni prezintă uneori trei pori germinativi (f).

Secțiunea transversală a fructului proaspăt (fig. 2), se caracterizează printr-un contur oval-alungit, în care epicarpul este acoperit de

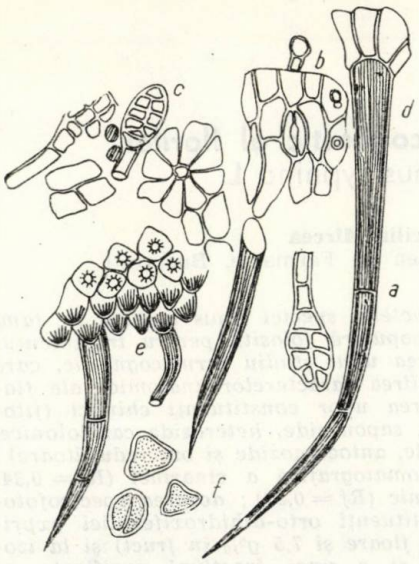


Fig. 1

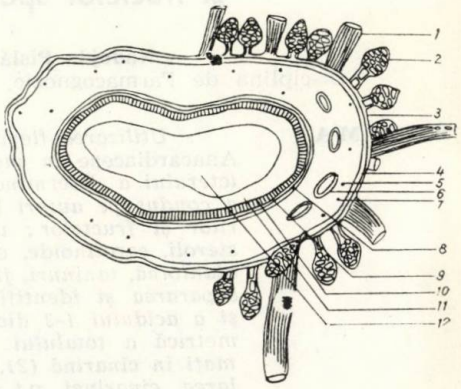


Fig. 2

numeroși peri tectori și glandulari, raportul fiind de 1 : 2. Perii tectori foarte dezvoltați, striați sînt în general pluricelulari, în timp ce perii glandulari alcătuiți dintr-un picior format din 1—3 celule prezintă o glandă cu 9—11 celule dispuse etajat.

În mezocarp se remarcă 8—12 canale secretorii și druze de oxalat de calciu, endocarpul fiind alcătuit dintr-un țesut mecanic ușor sclerificat. Sămînța (fig. 2) prezintă o testa alcătuită din celule izodiametrice, urmată de un strat de celule palisadice, îngroșate celulozic și cotiledoane alcătuite dintr-un țesut cornos prevăzut cu plasmodesme și uneori cu incluziuni. În interiorul seminței se poate observa o lacună centrală.

În fructul și sămînța pulverizată se remarcă aceleași elemente anatomice, ca și în secțiunea transversală, evidențiindu-se în plus epiderma papiloasă, rari peri monoglandulari și un țesut pigmentar caracteristic.

STUDIUL CHIMIC

1. Analiza chimică calitativă (10, 11) a florilor și fructelor speciei *Rhus typhina* L., uscată la 45°C a condus la identificarea prin reacții specifice a constituenților menționați în tabelul I : cumarine, fitosteroli, carotinoide, saponozide, heterozide cardiotonice, alantoină, tanin, antocianozide și oze reducătoare.

2. *Separarea și identificarea cromatografică a derivaților o-dihidroxifenolici din florile și fructele plantei Rhus typhina* L., s-a realizat, utilizînd o tehnică de lucru menționată în literatura de specialitate (12) și modificată de noi.

S-a aplicat cromatografia ascendentă, folosind ca fază staționară hîrtia Whatman 1, iar ca fază mobilă NCl N/10 (12).

Au fost analizate soluțiile apoase și alcoolice 1% din floare și fruct, obținute la rece și prin macerare, sau la cald prin refluxare 1—3 ore în prezența etaloanelor de cinarină, acid cafeic, acid clorogenic și acid 1-3-dicafeilchinic, soluții 0,01% în etanol. Benzile de hîrtie cromatografică (26/38 cm) supuse developării timp de 12 ore, au fost uscate mai întîi la temperatura camerei, apoi la etuvă la 50—60°C.

Tabelul 1

Organ vegetativ	Sol. extr. eterică	Sol. extr. alcoolică	Sol. extr. apoasă	Reacții și reactivi de identificare
Floarea	cumarine	cumarine	cumarine	r. Feigl-Frehden-Angers
	fitosteroli			r. Liebermann-Burchard
	carotinoide			r. Carr-Price
		saponozide	saponozide	r. Liebermann-Burchard
		h. cardio-tonice	h. cardio-tonice	r. Liebermann-Burchard
				r. Keddé
		alantoina	alantoina	r. Adamkiewici-Hoppkins-Colle
		tanin	tanin	r. cu clorură ferică
		flavonozide	flavonozide	r. Shibata
		antocianozide	antocianozide	r. Bate-Smith virajului
		oze reducă-toare	oze reducă-toare	r. Fehling
Fructul	fitosteroli			r. Liebermann-Burchard
	carotinoide			r. Carr-Price
		antocianozide	antocianozide	r. Bate-Smith
		tanin	tanin	r. cu clorură ferică
		saponozide	saponozide	r. Liebermann-Burchard
		h. cardio-tonice	h. cardio-tonice	r. Liebermann-Burchard
		alantoină	alantoină	r. Adamkiewicz-Hoppkins-Colle
		cumarine	cumarine	r. Feigl-Frehden-Angerss
		flavonozide	flavonozide	r. Shibata
		oze reducă-toare	oze reducă-toare	r. Fehling

Examinate la U.V. cromatogramele au permis evidențierea atît în floare, cît și în fruct a unui singur spot de fluorescență violetă Rf = 0,22, identic cu al etalonului de acid 1-3-dicafeilchinic.

Pentru revelarea cromatogramelor s-a folosit soluția alcoolică 5% de $FeCl_3$ și reactivul Arnow, care a condus la cele mai concludente rezultate, obținîndu-se atît în floare, cît și în fruct cîte 2 spoturi de culoare roșie-portocalie (Rf = 0,34), corespunzător etalonului de cinarină și Rf = 0,22, corespunzător etalonului de acid 1-3-dicafeilchinic (fig. 3).

Din studiul cromatografic întreprins, reiese că cinarina există în soluțiile extractive alcoolice alături de acidul 1-3-dicafeilchinic, pe cînd în soluțiile apoase există inițial numai acidul 1-3-dicafeilchinic, cinarina putînd fi identificată numai în soluția extractivă apoasă obținută prin refluxare timp de 1 oră, cînd acidul 1-3-dicafeilchinic se izomerizează, trecînd în cinarină (13).

c) *Determinarea cantitativă a derivaților o-dihidroxifenolici* s-a realizat după o metodă fotocolorimetrică al cărei principiu constă în fotocolorimetrarea complexului roșu-portocaliu rezultat din acțiunea reactivului Arnow asupra derivaților cafeilchinici (8).

S-au utilizat pentru dozare flori și fructe uscate la 45°C și pulverizate.

DETERMINAREA CURBEI ETALON

Stabilirea curbei etalon de extincție s-a realizat, folosind următorii reactivi :

A. — Reactiv Arnow
— $NaNO_2$
— Molibdat de amoniu 10 g
— Apă 100 ml
B. — HCl N/10
C. — NaOH 1 N
D. — Soluție etanolică de cinarină 0,01%.

Soluțiile de cinarină necesare realizării curbei etalon s-au preparat după următoarea tehnică de lucru : într-o serie de baloane de 25 ml s-au pipetat : 0,75 ; 1,5 ; 2,25 ml soluție cinarină 0,01%, peste care s-au adăugat cîte 3 ml reactiv Arnow, 3 ml HCl N/10, 3 ml HCl NaOH N/1 și s-au completat la semn cu apă distilată.

În paralel s-au pregătit probe martor cu aceleași soluții în aceleași condiții, dar fără soluție de cinarină. Baloanele astfel pregătite au fost agitate, iar soluțiile obținute de culoare roșie, după un repaus de cîteva minute s-au colorimetrat la specol I.O.R. în cuve de 1 cm, folosind lungimea de undă de 470 nm. Pe baza rezultatelor obținute s-a construit curba etalon de extincție a cinarinei (fig. 4).

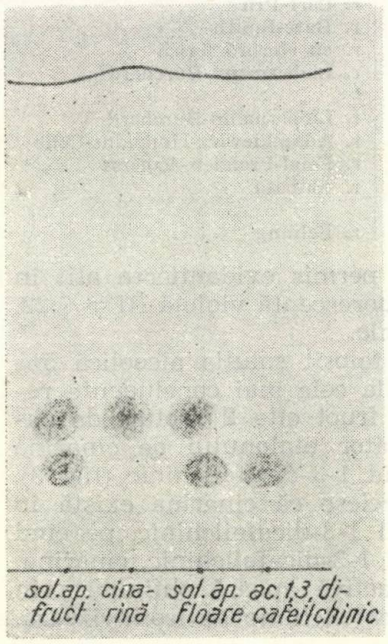


Fig. 3

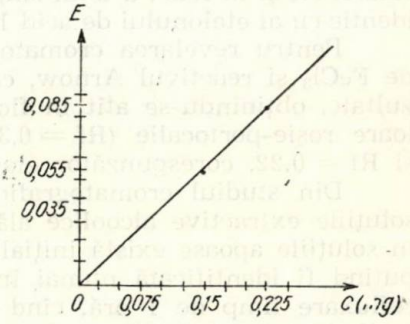


Fig. 4

Din examinarea graficului se constată că absorbanțele satisfac legea Lambert-Beer, însă numai pentru concentrații cuprinse între 0,000075 și 0,000225 g/ml, concentrații mai mari, producînd o deviere a curbei.

Determinarea totalului de derivați o-dihidroxifenolici din florile și fructele plantei Rhus typhina, s-a realizat după următoarea tehnică :

Probe de cîte 4 g fructe și separat flori, cîntărite exact s-au introdus în baloane tarate, de 250 cm^3 cu cîte 80 ml alcool etilic de 50° și s-au refluxat pe baie de apă timp de 30 minute. După răcire s-au completat la greutatea inițială cu alcool de 50° și s-au filtrat prin hîrtie de filtru (12, 13). Din aceste soluții extractive s-au luat cîte 2 ml (fruct) și respectiv 1 ml (floare) și s-au adus în baloane cotate de 100 ml, completîndu-se la semn cu apă distilată. După mai multe încercări, din aceste soluții s-au luat cîte 2,25 ml (fruct) și respectiv 1,5 ml (floare) și s-au adus în baloane cotate de 25 ml. S-au mai adăugat apoi 3 ml reactiv Arnow, 3 ml HCl N/10 și 3 ml NaOH N/1 completîndu-se la semn cu apă distilată. Coloratia roșie obținută s-a colorimetrat la specol I.O.R. în cuve de 1 cm, folosind lungimea de undă de 470 nm.

Ca lichid de compensație s-a folosit o probă martor preparată în aceleași condiții, dar fără soluția de analizat. Coloratia roz obținută fiind mai intensă în primele minute de la preparare, citirile s-au efectuat îndată după preparare.

Rezultatele obținute interpolate în curbă și raportate procentual ne-au condus la datele consemnate în tabelul II, din care reiese că

Tabelul II

Nr. probei	Organul vegetativ	Greutatea probei	Total derivați cafeilchinici exprimați în cinarină g%
1	floare	0,00075	21,3
2	fruct	0,00225	7,5

floarea conține 21,3 g%, iar fructul 7,5 g% total orto-dihidroxifenolici exprimați în cinarină.

Utilizînd în aceleași condiții de lucru, metoda Folin-Ciocîlteu (13), s-au obținut rezultate mult mai mari, ținînd seama că acest reactiv este specific pentru o gamă mult mai largă de derivați polifenolici.

d) *Izolarea cinarinei* s-a realizat după o tehnică menționată în literatura de specialitate (11, 13).

Din 58 g material vegetal (floare + fruct), uscate la 45°C și pulverizat, s-au extras consecutiv de trei ori cu cîte 300 ml alcool etilic de 50°. Din soluțiile extractive reunite s-a îndepărat alcoolul prin distilare sub presiune redusă. Soluția apoasă rămasă s-a precipitat în continuare cu soluție de acetat de plumb, pînă cînd reacția de $FeCl_3$ în filtrat a fost negativă. Precipitatul spălat cu apă fiartă, s-a dizolvat apoi în H_2SO_4 2%, îndepărtîndu-se plumbul sub formă de $PbSO_4$, iar excesul de H_2SO_4 s-a neutralizat cu carbonat de calciu (fig. 5).

Din soluția extractivă purificată și concentrată sub presiune redusă, s-au efectuat cromatograme după tehnica prezentată în capitolul anterior, în prezența etalonului de cinarină și a extractului apos deproteinizat „Anghirol" elaborat de Fabrica de medicamente „Biofarm" — București.

După revelarea cromatogramelor cu reactivul Arnow, s-au putut evidenția în soluția purificată două spoturi de culoare portocalie, unul

care corespunde etalonului de cinarină Rf = 0,34 şi altul mai puţin evident Rf = 0,68 prezent şi în extractul apos deproteinizat „Anghirol", probabil după datele din literatură acidul chinic (13).

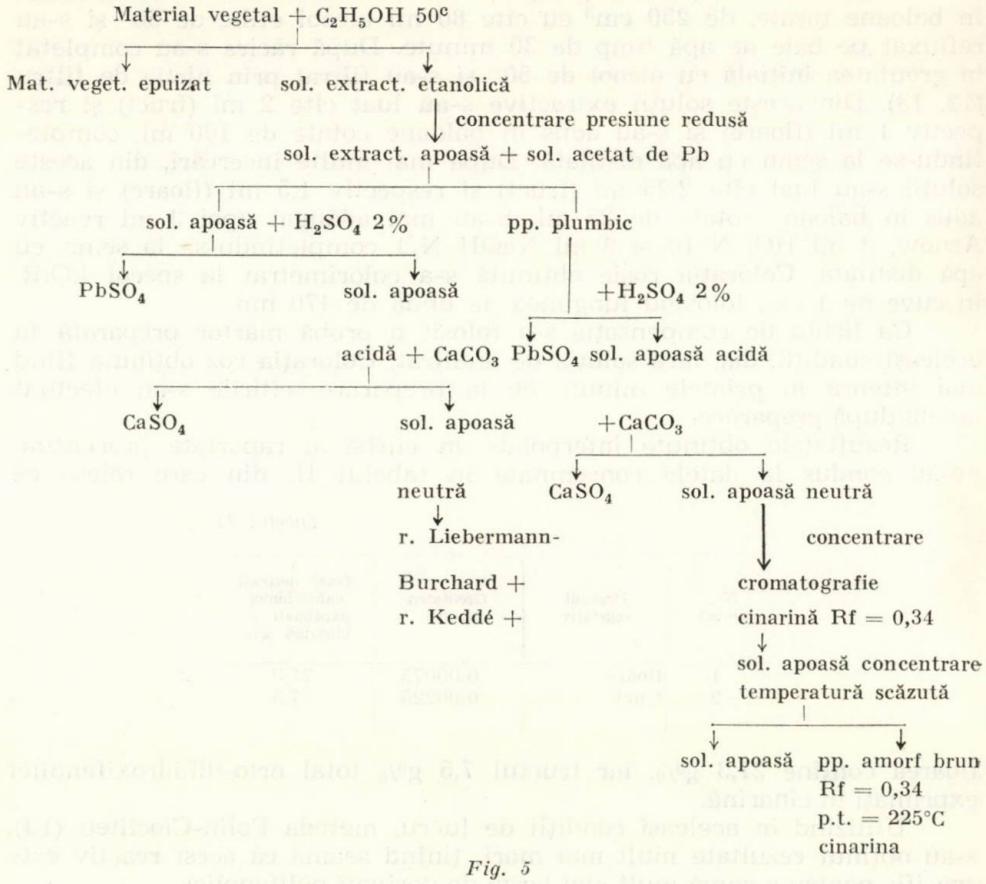


Fig. 5

Cinarina fiind prezentă, soluţia extractivă purificată s-a concentrat sub presiunea redusă la un volum de circa 50 ml şi s-a menţinut la frigider. După un interval de 10 zile precipitatul amorf de culoare brună, depus în timp a fost separat prin filtrare. Această substanţă a prezentat la analiza cromatografică un Rf egal cu al etalonului de cinarină şi un p.t. = 225°C apropiat de al cinarinei pure (227—228°C mikroheitztisch).

Soluţia apoasă rămasă după defecarea cu acetatul bazic de plumb 20%, după îndepărtarea excesului de ioni Pb^+ şi SO_4^{--} a prezentat reacţiile pozitive pentru heterozide cardiotonice (r. Liebermann-Burchard şi Keddé).

CONCLUZII

1. Studiul histologic efectuat a condus la stabilirea caracterelor anatomice ale florilor şi fructelor plantei *Rhus typhina* L.

2. Analiza chimică calitativă a permis identificarea în floare şi fruct a următorilor constituenţi : fitosteroli, carotinoide, cumarine, sapo-

nozide, heterozide cardiotonice, alantoină, taninuri, flavonozide, antacianozide şi oze reducătoare.

3. Prin analiză cromatografică s-au separat şi identificat cinarina Rf = 0,34 şi acidul 1-3-dicafeilchinic Rf = 0,22.

4. Aplicînd o metodă spectrofotometrică menţionată în literatura de specialitate, am dozat totalul constituenţilor orto-dihidroxifenolici exprimaţi în cinarină, obţinînd 21,3 g% în floare şi 7,5 g% în fruct.

5. S-a izolat cinarina Rf = 0,34, p.t. = 225°C, apropiat de al cinarinei pure (227—228°C) şi o fracţiune purificată cu heterozide cardiotonice.

BIBLIOGRAFIE

1. BODEA C. — Tratat de biochimie vegetală, ediţia a II-a, Ed. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1965, 1 182.
2. REUTTER L. — Traité de matière médicale et de chimie végétale, Ed. Baillière et fils, Paris, 1923, 766.
3. PERROT EM. — Matières premières usualles du règne végétal, II, Ed. Masson et Cie, Paris, 1943—1944, 1 297.
4. PLANCHON L., BRETIN PH. — Précis de matière médicale, I, Librairie Maloine, Paris, 1946, 1 035.
5. WISE L. J. — în *C.A.*, 1965, 62, 5714 d.
6. ENGLER-DIELS — Syllabus der Pflanzenfamilien, XI-a, Ed. Bornträger, Berlin, 1936, 263.
7. SE ACK HONG — Chemical investigation and pharmacological action of urushiol, în *C.A.*, 1962, 57, 5663.
8. MADAUS G. — Lehrbuch der biologischen Heilmittel, III, Ed. Georg Thieme, Leipzig, 1938, 2 312.
9. STEIMETZ W. — Bull. Soc. Botanique de France, LXXXI, 296—297, 1934.
10. CONSTANTINESCU EUG. şi colab. — *Farmacia (Buc.)*, 1964, 12, 385.
11. * * * — Farmacognozie practică, Litografie I.M.F., Bucureşti, 1970, 58.
12. CONSTANTINESCU EUG. şi colab. — *Farmacia (Buc.)*, 1968, 18, 1, 21.
13. NICHIFORESCU E. — Teză de doctorat, Bucureşti, 1968.
14. KARRER W. — Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe, XII, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1958, 396.

Articol intrat în redacţie la 22.XI.1974.

Indicele de clasificare : 615.32 *Rhus typhina*

SUMMARY

Nadejda Pîslăraşu, Cecilia Mircea — CONTRIBUTIONS TO THE PHARMACOGNOSTIC STUDY OF RHUS TYPHINA L. FLOWERS AND FRUIT

The use in folk medicine of *Rhus typhina L.* flowers and fruit (Ancardiaceae fam.) for the treatment of jaundice led the authors to carry out a pharmacognostic study in order to : establish the anatomic characters of the flowers and fruit, to identify certain chemical constituents (phytosterols, carotinoids, coumarin, saponosides, heterosides, cardiotonics, allantoin, tannins, flavonosides, antocyanosides and reducing-oses), to separate and identify chromatographically cinnarin (Rf = 0.34) and 1-3 dicaffeilquinic acid (Rf = 0.22), to determine spectrophotometrically the total amount of ortho-dihydroxyphenolic constituents expressed from cinnarin (21.3 g% in the flowers and 7.5 g% in the fruit) and during the isolation of cinnarin p.t. = 225°C and of a purified fraction with cardiotonic heterosides.

РЕЗЮМЕ

Надежда Пыслэрашу, Цецилия Мирча — К ВОПРОСУ ФАРМАКОГНОЗИИ ЦВЕТОВ И ПЛОДОВ ВИДА RHUS TYPHINA

Использование цветов и плодов вида Rhus typhina семейства Anacordiaceae в народной медицине для лечения желтухи послужило поводом для фармакогнозического исследования этого растения, в результате чего авторы установит: анатомические особенности цветов и плодов, а также и некоторые химические компоненты — фитостеролы, каротиноиды, кумарины, сапонозиды, гетерозиды, кардиотонические, аллантоины, танины, флавонозиды, антоцианозиды и восстанавливающие озы, — отделили и осуществили хроматографическое определение тинарина (Рф = 0,34) и 1-3-дикафеилхининовой кислоты (Рф = 0,22) — спектрофотометрическое определение общего числа ортодигидроксифеноловых компонентов, представленных цинарином (21,3 г% в цветах и 7,5 % — в плодах) и выделили цинарин с очкой кипения = 225°С, а также и очищенную фракцию, содержащую кардиотонические гетерозиды.

DIN ACTIVITATEA U.S.S.M.

A VI-a sesiune ştiinţifică anuală a Academiei de Ştiinţe medicale

În zilele de 16 şi 17 ianuarie a.c. a avut loc la Bucureşti, Sesiunea ştiinţifică a Academiei, consacrată în acest an unor probleme legate de „Cercetarea şi utilizarea medicamentelor".

Lucrările, desfăşurate în patru secţii, au fost axate pe : 1) *Criterii de calitate a medicamentului* (puritate, biodisponibilitate, forme de administrare) ; 2) *Farmacologie experimentală şi clinică* (cu referire la medicamentul nou românesc şi la produsele din grupul tranchilizantelor) ; 3) *Reacţii adverse şi farmacovigilenţă* (în cadrul antibioticelor, corticosteroizilor, substanţelor de contrast iodate, al terapiei cu sînge, precum şi implicaţiile utilizării acestora la copii şi la vîrstnici) ; 4) *Medicamentul biologic* (seroterapia, imunoglobuline specifice, imunoterapia nespecifică).

Înaintea Sesiunii propriu-zise, la 15 ianuarie a.c., a fost organizată o Masă rotundă în cadrul căreia a fost dezbătută mai pe larg *Biodisponibilitatea medicamentelor.* Lucrările au fost conduse de tov. prof. P. Ionescu-Stoian, preşedintele Secţiei de cercetări farmaceutice a Academiei de Ştiinţe Medicale, intervenţiile specialiştilor participanţi au abordat unele aspecte importante de biofarmacie, referitoare la influenţa pe care o au asupra biodisponibilităţii, natura substanţei, forma de cristalizare, mărimea particulelor şi alte caracteristici fizico-chimice, precum şi forma de administrare şi diversele tehnologii aplicate pentru obţinerea preparatelor.

În afara raportului general al Sesiunii, intitulat „Progrese şi perspective în cercetarea şi utilizarea medicamentului", la Masa rotundă şi în cele patru secţii de lucru au fost prezentate 5 rapoarte, 22 de corapoarte şi 90 de comunicări, axate în întregime pe tematicile menţionate.

Interesul suscitat de problematica Sesiunii şi de conţinutul expunerilor s-a manifestat prin prezenţa constantă la lucrări a numeroşi specialişti din unităţile de cercetare şi de producţie ale Ministerului Sănătăţii şi Ministerului Industriei Chimice, a cadrelor didactice şi practicienilor din reţeaua de ocrotire a sănătăţii. S-a subliniat cu deosebită satisfacţie faptul că Sesiunea Academiei de Ştiinţe Medicale a reunit în dezbaterea unor probleme de interes comun pe medici, farmacişti, chimişti, biologi, fizicieni, ingineri şi alţi specialişti implicaţi în cercetarea şi utilizarea medicamentului, oferind astfel, un cadru organizat pentru utile schimburi de informaţii, de opinii şi de confruntări ale diverselor puncte de vedere.

Din concluziile specialiştilor asupra fiecărei probleme dezbătute în cadrul secţiilor, au fost sintetizate concluziile generale ale Sesiunii, prezentate în încheiere de tov. prof. R. Păun, pe care le expunem în continuare.

Concluzii

1. În ansamblul criteriilor de natură fizică, fizico-chimică şi biologică care definesc calitatea unui medicament au intervenit în ultimii ani importante modificări de ordin cantitativ şi calitativ. Progresele înregistrate în cunoaşterea naturii substanţelor medicamentoase au impus multiplicarea criteriilor care se cer a fi stabilite pentru fiecare medicament în parte. Tehnicile de investigare şi de verificare a acestora beneficiază în prezent de unele dintre cele mai moderne metode fizico-chimice şi matematice, ceea ce lărgeşte permanent sfera cunoaşterii în acest domeniu şi implică, totodată, formarea de cadre corespunzător specializate.

2. Posibilităţile aproape nelimitate de a se produce substanţe cu potenţial terapeutic, cercetările costisitoare şi de lungă durată care se întreprind pentru selecţionarea în final a unui singur medicament dintre multiplele posibilităţi ini-

ţiale, dar mai cu seamă responsabilitatea imensă a actului de introducere a unui medicament în practica curentă, au concentrat atenţia cercetătorilor spre elaborarea unor metodologii cît mai ştiinţifice şi riguros etapizate, atît pentru faza experimentării de laborator, cît şi pentru faza experimentării clinice. Posibilităţile de cunoaştere tot mai aprofundată a modului de acţiune al fiecărui medicament sau grup de medicamente au dus la o amplificare a necesităţilor de cercetare, în mod deosebit pentru medicamentul nou, impunînd în acelaşi timp necesitatea ordonării lor în reguli, cît mai precise, necesitatea transpunerii în practica cercetării a „experimentului controlat".

3. Utilizarea în practica medicală a unor medicamente deosebit de active, ca şi asocierea acestora în cadrul actului terapeutic, pot să provoace uneori reacţii nedorite, imediate sau „la distanţă", insuficient cunoscute şi de multe ori imprevizibile. Sesizarea apariţiei unor asemenea fenomene a atras atenţia asupra necesităţii de a se intensifica cercetările în acest domeniu, prin urmărirea atentă şi cu metode sigure a medicamentelor pe care le utilizăm sau — mai corect spus — a implicaţiilor pe care le are utilizarea acestora asupra organismului uman şi a sănătăţii publice.

4. În domeniul medicamentului biologic sînt de reţinut de asemenea importante modificări de ordin teoretic şi practic intervenite în ultimii ani. Progresele înregistrate în domeniul imunologiei, pe de o parte, ca şi cele obţinute în perfecţionarea standardizării medicamentului biologic pe de altă parte, aduc reconsiderări importante privind direcţiile de cercetare necesare a fi abordate şi modul de utilizare a acestor produse, administrate cel mai adesea în colectivităţi se impune, în stadiul posibilităţilor de care dispunem în prezent, elaborarea şi introducerea în practică a unor criterii, cît mai riguroase de testare a eficienţei medicamentului biologic.

Actuala Sesiune a Academiei de Ştiinţe Medicale a demonstrat, prin lucrările prezentate, că cercetarea şi practica medicală şi farmaceutică din ţara noastră posedă experienţa şi competenţa corespunzătoare pentru realizarea de medicamente — noi sau asimilate —, pentru elaborarea şi controlul acelor criterii, care să confere unei substanţe potenţial terapeutic, calitatea de medicament, pentru elaborarea şi efectuarea cercetărilor riguros ştiinţifice de experimentare în laborator şi clinică, pentru elaborarea şi practicarea regulilor de justă utilizare a medicamentului şi de supraveghere a eventualelor reacţii nedorite.

Desigur că progresele viitoare vor fi determinate în mare măsură de acţiunile care le vom întreprinde în prezent pentru impulsionarea şi coordonarea cercetărilor care necesită o finalizare rapidă sau oferă perspective de dezvoltare, precum şi de o serie de acţiuni de ordin organizatoric, care să sprijine cercetarea şi utilizarea judicioasă a medicamentelor.

СОДЕРЖАНИЕ

Оригинальные статьи

Стр.

Г. Морарт, Лауренция Петрониу, Сильвия Крянгэ, Крина Попа — *Использование гетерополикислот при анализе лекарственных препаратов. Сообщение* V. *Исследование производных реакции между Напотоном и гетерополикислотами* 129

В. Ариешан, Зенаида Кожокару, Дойна Гиран, Елена Киндриш, Ф. Гаджиу, П. Нистор, А. Каковяну — *Исследование некоторых* N*-замещенных амидов из ряда феноксиуксусной кислоты* 135

Матильда Россети, Дениса Е. Михеле — *Исследования по вопросам влияния некоторых обладающих пиридиновым ядром веществ на деятельность уреазы* 141

Камелия Гимическу, Мария Стан, В. Дорняну — *Колориметрическое определение аминофенозона в различных аптечных формах* 147

Онориус Попеску — Aetheroleum Thymi *румынского производства* 153

Дойна Албулеску, Маделена Паладе, Мария Дафинческу — *К вопросу кумариновых производных, содержащихся в* Levisticum officinale Koch 159

Лучия Греку, Виорика Куку — *К вопросу агликона примуловой кислоты в корнях* Primula officinalis 167

Елиза Гюру — *Исследования в области сравнительной гистоанатомии вида* Fumex L. *листья. Сообщение I. Лимб* 171

Г. Ротбекер, Л. Опрей, Л. Дину, К. Ифтимие, И. Целес — *Результаты химического исследования эфирного масла, содержащегося в смоле* Picea excelza 179

Надежда Пысларашу, Цецилия Мирча — *К вопросу фармакогнозии цветов и плодов вида* Rhus typhina L. 183

Из деятельности Объединения обществ медицинских наук

Рефераты

SUMAR

1976 JAN 08

Lucrări originale

Pag.

Gh. Morait, Laurenţia Petroniu, Silvia Creangă, Crina Popa — *Folosirea heteropoliacizilor în analiza medicamentelor. V. Studiul produşilor de reacţie dintre napoton şi heteropoliacizi* 129

V. Arieşan, Zenaida Cojocaru, Doina Ghiran, Elena Chindriş, Fl. Gagiu, C. Nistor, Al. Cacoveanu — *Cercetări asupra unor amide N-substituite din seria acidului fenoxiacetic* 135

Matilda Rosetti, Denisa E. Mihele — *Cercetări privind influenţa unor substanţe cu nucleu piridinic asupra activităţii ureazei* 141

Camelia Ghimicescu, Maria Stan, V. Dorneanu — *Determinarea colorimetrică a aminofenazonei din diferite forme farmaceutice* 147

H. Popescu — *Aetheroleum Thymi produs în România* . . . 153

Doina Albulescu, Madelena Palade, Maria Dafincescu — *Contribuţii la studiul derivaţilor cumarinici din Levisticum officinale* Koch . . 159

Lucia Grecu, Viorica Cucu — *Despre agliconul acidului primulic din rădăcina de Primula officinalis* 167

Eliza Ghiuru — *Cercetări de histoanatomie comparată la specii de Rumex* L. *Frunza. I. Limbul* 171

H. Rothbächer, L. Oprei, L. Dinu, C. Iftimie, I. Czellecz — *Studiul chimic al uleiului eteric obţinut din răşina de Picea excelsa* . . . 179

Nadejda Pîslăraşu, Cecilia Mircea — *Contribuţii la studiul farmacognostic al florilor şi fructelor speciei Rhus typhina* L. 183

Din activitatea U.S.S.M.

Referate

„Taxele poştale achitate conform aprobării D.G.P.Tc. Nr. 137/5736/1974"

EDITURA MEDICALĂ

I. P. „Informaţia" — c. 352

41 500

Lei 6

E2159

UNIUNEA SOCIETĂŢILOR DE ŞTIINŢE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

R

Farmacia

REFERATIVA

REVISTĂ A SOCIETĂŢII DE FARMACIE

COLEGIUL DE REDACŢIE:

Redactor responsabil: prof. D. GR. CONSTANTINESCU
Redactor responsabil adjunct: prof. V. STĂNESCU
Secretari de redacţie: farm. VASILICA ANTONESCU
conf. ST. TĂMĂŞDAN

MEMBRI:

Col. farm. C. APREOTESEI, prof. V. ARIEŞAN (Cluj-Napoca), farm. ANA BERECHET, prof. V. CIOCÂNELEA (Cluj-Napoca), conf. M. COTRĂU (Iaşi), farm. I. CRUCEANU, prof. L. ENESCU (Iaşi), conf. Z. FÎRŞIROTU, farm. M. GEORGESCU, prof. I. GRECU (Cluj-Napoca), farm. I. IONESCU, conf. D. MONCIU, conf. GH. MORAIT, farm. N. OPRESCU, conf. D. OŢELEANU, conf. I. POPA, farm. NICULINA POPA, farm. V. POPOVICI (Timişoara), conf. E. PUŞCARU, conf. N. ŢUCHEL, farm. R. VASILIEV

4

OCTOMBRIE — DECEMBRIE 1975

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA
București, str. Progresului 8, Sector VII — Telefon 13 89 73

AVIZ IMPORTANT

În atenția cititorilor revistelor publicate de U.S.S.M.

Uniunea Societăților de Științe Medicale publică un număr de 7 reviste medicale pe subtitluri de specialitate. Pentru a vă asigura întreaga colecție a revistelor care vă interesează, abonați-vă din timp, deoarece revistele se difuzează numai pe bază de abonamente al căror cost este arătat în tabelul de mai jos :

1) Revista de chirurgie, oncologie, radiologie, O.R.L., oftalmologie și stomatologie, cu următoarele subtitluri :

a) CHIRURGIA	6 apariții	60 lei
b) ONCOLOGIA	4 „	48 „
c) RADIOLOGIA	4 „	48 „
d) O.R.L.	4 „	48 „
e) OFTALMOLOGIA	4 „	48 „
f) STOMATOLOGIA	4 „	40 „

2) Revista de medicină internă, neurologie, psihiatrie, neurochirurgie și dermato-venerologie, cu următoarele subtitluri :

a) MEDICINA INTERNĂ	6 apariții	54 lei
b) NEUROLOGIA, PSIHIATRIA, NEUROCHIRURGIA	4 „	56 „
c) DERMATO-VENEROLOGIA	4 „	64 „

3) Revista de igienă, bacteriologie, virusologie, parazitologie, epidemiologie și pneumoftiziologie, cu următoarele subtitluri :

a) IGIENA	4 apariții	32 lei
b) BACTERIOLOGIA, VIRUSOLOGIA, PARAZITOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA	4 „	48 „
c) PNEUMOFTIZIOLOGIA	4 „	48 „

4. Revista de pediatrie, obstetrică și ginecologie, cu următoarele subtitluri :

a) PEDIATRIA	4 apariții	32 lei
b) OBSTETRICA ȘI GINECOLOGIA	4 „	48 „

5) FARMACIA	4 apariții	24 lei
6) VIAȚA MEDICALĂ		
— pentru Cadre superioare	12 apariții	72 lei
— pentru Cadre medii	12 „	36 „
7) REVISTA SANITARĂ MILITARĂ	4 apariții	32 lei

Aceste reviste se pot procura numai pe bază de abonament.

Abonamentele se fac între 1.IX.-15.XII.1975 — pe subtitluri de specialitate — cu plata integrală pe un an, numai prin filialele Uniunii Societăților de Științe Medicale.

UNIUNEA SOCIETĂȚILOR DE ȘTIINȚE MEDICALE
DIN REPUBLICA SOCIALISTĂ ROMÂNIA

Farmacia
REVISTĂ A SOCIETĂȚII DE FARMACIE

Redacția: București, str. Progresului nr. 8. — Telefon 13.89.73.

VOLUMUL XXIII OCTOMBRIE 4 DECEMBRIE 1975

ORSZÁGOS MUSZAKI KÖZPONTI DOKUMENTÁCIÓS KÖNYVTÁR 1883

LUCRĂRI ORIGINALE. CERCETĂRI EXPERIMENTALE

Sinteza unor hidrazidone din seria acidului 1, 2, 4-triazol-3-il-mercapto-acetic

V. Zotta, Ana Tătaru

Laboratorul de chimie farmaceutică, Facultatea de farmacie, I.M.F. București

REZUMAT

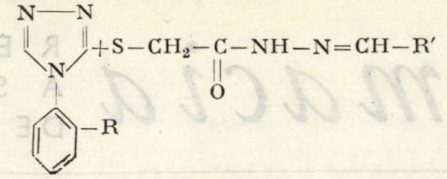
Autorul sintetizează benziliden-hidrazide ale acizilor 4-aril-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetici, prin condensarea hidrazidelor corespunzătoare cu aldehide aromatice substituite. Structura compușilor dedusă din sinteză a fost confirmată prin analiză spectrală în I.R.

Numeroase date din literatura din ultimii ani arată prezența derivaților de 3-mercapto-1, 2, 4-triazol în structura unor compuși cu acțiune farmacodinamică foarte variată : antihistaminică, hipotensivă, anticonvulsivantă, hipnotică, anestezică (1, 2, 3, 4) etc.

Ținînd cont de aceste realizări și de efectul deosebit de favorabil ce se obține în general prin introducerea unui atom de sulf în structura compușilor organici, în continuarea lucrărilor noastre (5, 6) am sintetizat o serie de benziliden-hidrazide ale acizilor triazolmercapto-acetici. În acest scop am condensat hidrazidele acidului 1, 2, 4-triazol-3-il-mercapto-acetic, cu diferite aldehide aromatice substituite, lucrînd în mediu de alcool etilic lipsit de alte aldehide.

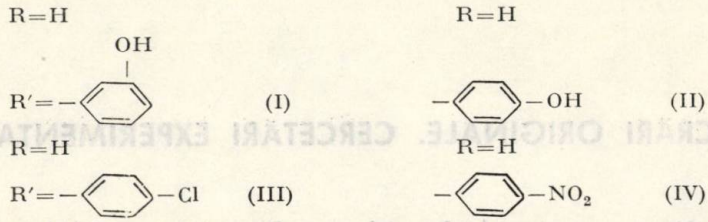
Pentru a putea studia în mod comparativ influența substituenților de pe nucleul aromatic al aldehidelor folosite pentru condensare am utilizat aldehide aromatice substituite cu grupări nitro- în poziția para, cu grupări hidroxil în poziția meta și para, precum și cu clor de asemenea în poziția para. Componenta heterociclică folosită pentru condensare este hidrazida triazolului disubstituit și anume hidrazida acidului 4-fenil-1, 2, 4-triazol-3-il-mercapto-acetic.

Am sintetizat astfel benziliden-hidrazide cu următoarea formulă generală :



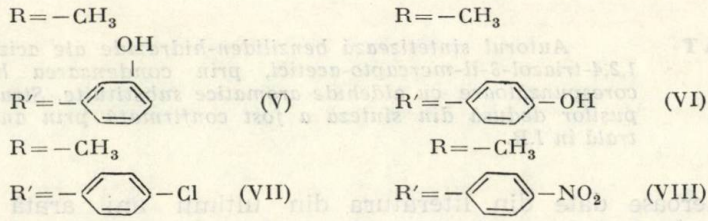
De asemenea, am sintetizat benziliden-hidrazide folosind componenta heterociclică, hidrazida acidului (4-0-tolil-1, 2, 4-triazol-3-il)-mercapto-acetic, condensată cu aceleași aldehide aromatice substituite, ca și în cazul compușilor prezentați în tabelul I.

Tabelul I



Am obținut un număr de 4 compuși noi din seria N-(4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-benziliden-hidrazidei, precum și patru compuși noi din seria N-(4-0-tolil 1, 2-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-benziliden-hidrazidei pe care nu i-am găsit citați în literatura de specialitate.

Tabelul II



Hidrazidonele sintetizate de noi sînt substanțe frumos cristalizate, albe, exceptînd pe cele cu grupări nitro- care sînt ușor gălbui, iar compusul I este cafeniu ; toate au puncte de topire (p.t.) nete. Purificarea lor se face destul de ușor folosind ca solvenți alcoolul amilic, toluenul, xilenul. În general, se obțin randamente cuprinse între 42,60 și 93,75%, cu excepția compusului IV, la care randamentul este de numai 29%.

Structura noilor compuși, dedusă prin sinteză, a fost confirmată prin analiză spectrală în I.R., în domeniul cuprins între 500 și 2 600 cm^{-1}, cu ajutorul unui spectrofotometru automat tip U.R. 10, folosind tehnica pastilării în bromură de potasiu. Spectrele obținute au pus în evidență prezența diferitelor caracteristici în structura acestor compuși.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

I. *N-(fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-m-hidroxibenziliden hidrazida*

La 0,50 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 20 ml etanol (lipsit de aldehide) se adaugă 0,24 g (1 mol) m-hidroxibenzaldehidă dizolvată în 10 ml etanol și se fierbe la reflux 60 de minute. La răcire

Tabelul III

Nr. crt.	Formula brută. Greutatea moleculară	p.t. solv. crist.	C%		H%		N%	
			Calculat	Găsit	Calculat	Găsit	Calculat	Găsit
I	$C_{17}H_{15}N_5O_2S$ 353,336	206—208° (alcool amilic)	54,98	54,62	4,61	5,01	18,30	18,10
II	$C_{17}H_{15}N_5O_2S$ 353,336	206° (alcool amilic)	54,98	54,62	4,61	4,91	18,30	18,03
III	$C_{17}H_{14}N_5OSCl$ 371,845	156° (toluen)	52,36	52,00	4,13	4,45	17,96	18,15
IV	$C_{17}H_{14}N_6O_3S$ 382,396	222° (alcool amilic)	50,98	51,25	4,02	4,40	20,99	21,08
V	$C_{18}H_{17}N_5O_2S$ 367,422	232° (alcool amilic)	58,83	59,18	4,66	4,98	19,06	19,39
VI	$C_{18}H_{17}N_5O_2S$ 367,422	186—188° (alcool amilic)	58,83	59,13	4,66	4,94	19,06	19,34
VII	$C_{18}H_{16}N_5OClS$ 385,871	110—112° (xilen)	56,02	56,22	4,18	4,28	18,15	18,47
VIII	$C_{18}H_{16}N_6O_3S$ 396,422	202—204° (alcool amilic)	54,53	54,76	4,06	4,41	21,14	21,02

cristalizează 0,40 g produs I cu p.t. = 206—208° (alcool amilic) ; rdt-56,49%, insolubil la rece in apă, acid acetic, acetonă ; insolubil la cald în xilen, acetonă, solubil la cald în acid acetic, alcool amilic.

II. *N-(4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N-p-hidroxibenziliden hidrazida*

În aceleași condiții de reacție din 0,98 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 30 ml etanol lipsit de aldehide 0,48 g (1 mol) p. hidroxibenzaldehidă dizolvată în 15 ml etanol a rezultat 0,66 g produs II cu p.t. = 206° (alcool amilic) ; rdt = 47,81%, insolubil la rece în apă, etanol, xilen, acid acetic ; insolubil la cald în xilen, apă. Solubil la cald în etanol, acid acetic, alcool amilic, parțial solubil la cald în alcool izopropilic.

III. *N-(4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N-p-clor-benziliden hidrazida*

În condițiile menționate pentru compusul I, din 0,60 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 21 ml etanol (lipsit de aldehidă) și 0,33 g (1 mol) p-clor-benzaldehidă în 10 ml etanol, a rezultat 0,50 g produs III cu p.t. = 156—160° (toluen) ; radt. = 66,26%, insolubil la rece în majoritatea solvenților organici ; solubil la cald în etanol, toluen, acid acetic, alcool amilic, parțial solubil la cald în alcool izopropilic.

IV. *N-(fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-p-nitrobenziliden hidrazida*

În aceleași condiții de reacție menționate pentru compusul I, din 0,50 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-fenil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 20 ml etanol (lipsit de aldehide) și 0,30 g (1 mol) p-nitro-benzaldehidă în 10 ml etanol, a rezultat 0,22 g produs IV cu p.t. = 222° (alcool amilic) ; rdt. = 23,94%, insolubil la rece în majoritatea solvenților organici, parțial solubil la cald în apă, etanol, solubil la cald în alcool amilic.

V. *N-(4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-m-hidroxibenziliden hidrazida*

Lucrînd după metoda descrisă pentru compusul I, din 1,11 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 20 ml etanol (lipsit de aldehide) și 0,50 g (1 mol) m-hidroxibenzaldehidă dizolvată în 10 ml etanol, a rezultat 0,96 g produs V cu p.t. = 232° (alcool amilic) ; rdt. = 61,93%, insolubil la rece în majoritatea solvenților organici ; solubil la cald în alcool amilic și acid acetic.

VI. N-(4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-p-hidroxibenziliden-hidrazida

În aceleași condiții de reacție menționate pentru compusul I din 1,16 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 20 ml etanol (lipsit de aldehide) și 0,46 g (1 mol) p-hidroxibenzaldehidă dizolvată în 10 ml etanol, a rezultat 0,44 g produs VI cu p.t. = 186—138° (alcool amilic) ; rdt = 89,44%, insolubil la rece în majoritatea solvenților organici : solubil la cald în alcool izopropilic, alcool amilic și parțial solubil la cald în xilen.

VII. *N-4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-p. clor-benziliden-hidrazida*

În condițiile menționate pentru compusul I, din 1,16 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 20 ml etanol (lipsit de aldehidă) și 0,52 g (1 mol) p-clorbenzaldehidă dizolvată în 10 ml etanol, a rezultat 0,72 g produs VII cu p.t. = 110—112° (xilen) ; rdt = 42,60%, insolubil la rece în majoritatea solvenților organici ; solubil la cald în apă, etanol, xilen, acid acetic, alcool amilic, alcool izopropilic.

VIII. *N-(4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetil)-N'-p-nitro-benziliden hidrazida*

Lucrînd după metoda descrisă pentru compusul I, din 1,60 g (1 mol) hidrazidă a acidului 4-o-tolil-1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic (7) în 21 ml etanol (lipsit de aldehide) și 1,92 g (1 mol) p-nitrobenzaldehidă dizolvată în 15 ml etanol a rezultat 2,25 g produs VIII cu p.t. = 202—204° (alcool amilic) ; rdt. = 93,75%, insolubil la rece în apă și în majoritatea solvenților organici ; insolubil la cald în apă, etanol, toluen, cloroform ; solubil la cald și acid acetic, alcool amilic, xilen.

CONCLUZII

Am sintetizat opt compuși noi din seria benziliden-hidrazidelor acidului 1, 2, 4-triazol-3-il-mercapto-acetic.

Au fost stabilite condițiile de lucru și randamentele și s-au făcut analizele cantitative de carbon, hidrogen și azot.

Structura compușilor obținuți prin sinteză a fost confirmată prin analiză spectrală în I.R.

S-au făcut testări orientative ale acțiunii exercitate de unii din acești produși, ale căror rezultate vor fi prezentate în altă lucrare.

BIBLIOGRAFIE

1. PESSON M. — Brevet francez nr. 1159-M, 1962
2. * * * — Brevet francez nr. 2723, 1964
3. * * * — Brevet japonez nr. 12, 332, 1964, C.A., 1965, *62*, 374
4. * * * — Brevet japonez nr. 6834, 1962 ; C.A., 1963, *58*, 13965
5. ZOTTA V., TĂTARU-GAȘMET ANA — *Farmacia (Buc.)*, 1967, *XV*, 8, 479
6. ZOTTA V., TĂTARU ANA — *Farmacia (Buc.)*, 1969, *XVII*, 8, 461
7. ZOTTA V., GAȘMET ANA — *Farmacia (Buc.)*, 1963, *XI*, 12, 731

Articol intrat în redacție la 17.VI.1973. Indicele de clasificare : 547.571 : 547.556.5

SUMMARY

V. Zotta, Ana Tătaru — THE SYNTHESIS OF SOME HYDRAZIDONES OF THE 1,2,4-TRIAZOL-3-IL-MERCAPTO-ACETIC

Benzyliden-hydrazide of the 4-aryl-1,2,4-triazol-mercapto-acetic acids was synthetized by condensation of the hydrazides corresponding to substituted aromatic aldehydes. The structure of the compounds deduced from their synthesis was confirmed by spectral analysis in infrared light.

РЕЗЮМЕ

В. Зотта, Анна Тэтару — СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ ГИДРАЗИДОНОВ ИЗ СЕРИИ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ-МЕРКАПТО-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Авторы синтезизировали бензилиден-гидразиды 4-алил-1,2,4-триазол-3-илмерканто-уксусных кислот путем конденсации соответствующих гидразидов с замещенными ароматическими альдегидами. Структура полученных путем синтеза производных была подтверждена при помощи спектрального анализа в рамках инфракрасного спектра.

Complecşi ai unor derivaţi ai 2-(p-amino-benzen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu metale bi- şi trivalente. Nota I

D. Oţeleanu, Gh. Morait

Disciplina de industria medicamentelor şi chimie analitică
Facultatea de farmacie, Bucureşti

REZUMAT

S-au preparat o serie de compuşi complecşi (chelaţi) ai unor sulfamide cu nucleu 1, 3, 4-tiadiazolic, cu diverşi cationi de metale grele bi- şi trivalente (Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3+}), pentru care s-au stabilit condiţiile de obţinere şi s-au determinat spectrele în I.R.

Pe baza acestor analize, s-a stabilit formula complecşilor chelaţi ce pot fi folosiţi atît în analiza cantitativă pe baza caracterelor de culoare, solubilitate etc., cît şi în terapeutică.

Printre problemele de mare actualitate din domeniul stabilirii şi explicării acţiunii medicamentelor în organism, se înscrie şi efectul de complexare al acestora cu diferiţii ioni din organism sau substanţe organice. Cunoaşterea unor aspecte legate de această capacitate pe care o prezintă cele mai multe medicamente, atît din arsenalul clasic, cît şi din terapeutica modernă, a permis pe de-o parte să se introducă noi medicamente, iar pe de alta să se prevadă unele acţiuni în organismul viu al substanţelor folosite în scopuri terapeutice.

Mai mult, deoarece acţiunile particulare ale unor medicamente „agenţi de chelatare" se bazează, cel puţin în parte, pe proprietatea de a lega în combinaţii complexe foarte stabile diferiţi ioni metalici, se întrevede şi dezvoltarea raţională, ştiinţifică, a farmacologiei moderne [1].

O serie de lucrări au scos în evidenţă unele particularităţi legate de fenomenul de complexare, de chelatare, în care rolul de ligand îl îndeplinesc medicamentele. Acestea avînd în molecula lor diferite grupări funcţionale, atît funcţional analitice (care în reacţie cu diverşi cationi eliberează protoni), cît şi analitic active (capabile prin electronii neparticipanţi să stabilească legături dative), formează cu diverşi cationi cicluri cu o stabilitate mai mare sau mai mică, constituind mijloace capabile fie să scoată din circuit anumiţi ioni metalici toxici, fie să conducă ionii respectivi la receptori.

În acest sens sînt de menţionat complexonele, dintre care sarea disodică a acidului etilendiaminotetraacetic, sarea de calciu a EDTA, penicilamina (folosită atît în intoxicaţiile cu Pb^{2+}, Hg^{2+} etc. cît şi în tratamentul bolii Wilson), BAL (folosită de R. Peters şi colab. împotriva gazului lewizită în 1940, care scoate arsenul din acest compus) etc.

Începutul făcut în 1951, cînd EDTA a salvat viața unui copil intoxicat cu plumb, a creat o procupare deosebită în prepararea de medicamente cu activitate chelatizantă, în cele mai diferite maladii, de la intoxicațiile cu diferite combinații de metale grele, izotopi radioactivi, pînă la cancer.

S-a avut în vedere că metalele îndeplinesc multe funcții în viața organismelor vii, intrînd în compoziția echipamentului enzimatic al diferitelor bacterii și virusuri, fiind importante în același timp și în metabolismul propriu.

La baza acestei terapeutici, ca principiu fundamental stă o reacție competitivă pentru ionul metalic între substanțele din organismul viu și medicamentul folosit. Această reacție este însă mult influențată, atît de natura substanțelor competitive și a ionului metalic, cît și de prezența altor ioni sau molecule. Trebuie avut în vedere în același timp că uneori ionii metalici pot fi acoperiți, mascați, de straturi de grăsimi, (deci medicamentele trebuie să pătrundă prin acestea, pentru a putea „sechestra" ionul metalic, adică trebuie să fie solubile în grăsimi). Adeseori medicamentul trebuie să aibă o anumită structură moleculară, încît pătrunzînd într-o proteină pentru legarea ionului metalic, să nu fie reținut de proteină, determinînd mutații.

La toate acestea trebuie să se mai adauge și alte caractere ; să nu fie inactivat sau distrus de enzime, să nu aibă acțiune toxică etc.

L. C. Lapière [2] arată că substanțele cu acțiune complexantă și-au găsit următoarele întrebuințări mai importante :

— a lega anumiți ioni metalici toxici pentru organism, a solubiliza și ușura excreția lor ;

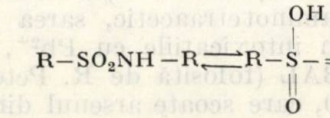
— a preveni fixarea în organism a unor izotopi radioactivi (exemplu Sr^{90}) ;

— a introduce în organism anumite oligoelemente, prin administrarea de chelați cu o stabilitate relativ redusă, pentru ca la nivelul receptorilor să fie cedați cationii respectivi.

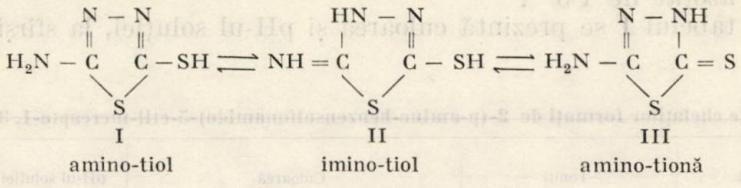
— legarea unor oligoelemente din sistemele enzimatice microbiene, a bacteriilor, virusurilor, sau introducerea în organism a unor elemente metalice toxice pentru acestea etc.

Pornind de la aceste considerente, conjugate cu acțiunea derivaților de 1, 3, 4, tiadiazol, care au găsit numeroase aplicații farmacologice : bacteriostatică (3, 4, 5), diuretică (6, 7), hipoglicemiantă (8—15), citostatică (16—18), tuberculostatică etc., am căutat să preparăm o serie de complecși cu diverși cationi metalici, pentru a putea urmări în ce măsură efectul de chelatare are influențe și asupra efectelor farmacologice. În același timp s-a urmărit și valorificarea lor în analiză. Am avut în vedere totodată și faptul că o serie de compuși cu nucleu 1, 3, 4-tiadiazolic în moleculă au fost deja folosiți în analiză (19—22).

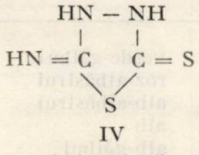
Substanțele sintetizate de unul din noi ([23-24]) prezintă două feluri de tautomerie, fie la nivelul :



fie la nivelul heterociclului :

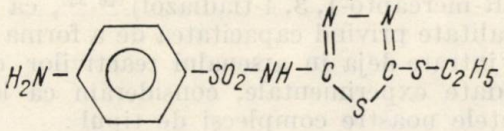


I amino-tiol — II imino-tiol — III amino-tionă

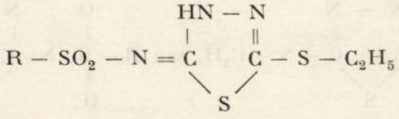


IV imino-tionă

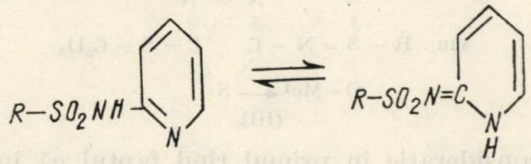
Compusul luat în studiu de noi este 2-(p-amino-benzensulfonamido)-5-etil-mercapto-1, 3, 4-tiadiazol [25].



Hidrogenul sulfamidic este labil și poate fi fixat la perechea de electroni neparticipantă a azotului :



tautomerie întrutotul comparabilă cu tautomeria



mai ales dacă se ține seama că proprietățile 1, 3, 4-tiadiazolului sînt apropiate de ale piridinei.

Același fenomen se întîlnește și la nucleul tiazolic.

Este posibilă și tautomeria la nivelul grupării sulfonamidice.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Tehnica preparării complecșilor : 0,1 g sare a cationului respectiv se dizolvă în circa 20 ml apă bidistilată. În paralel, se prepară o soluție de reactiv prin dizolvarea a 0,2 g substanță în 20 ml apă în care s-a adăugat carbonat acid de sodiu (pH ~ 8,5).

Se aduce soluția de sulfamidă peste soluția sării de cation pînă la precipitare cantitativă (pH ~ 5), se separă prin filtrare, se spală cu apă bidistilată. Se usucă pe acid sulfuric, în exicator.

S-a lucrat cu soluție de sulfați de cationi de Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3} , și azotat de Pb^{2+}.

În tabelul I se prezintă culoarea și pH-ul soluției, la sfîrșitul complexării.

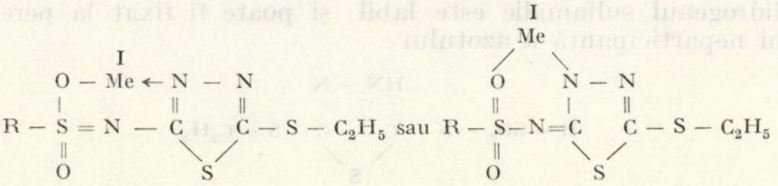
Tabelul 1

Proprietățile chelaților formați de 2-(p-amino-benzensulfonamido)-5-etil-mercapto-1, 3, 4-tiadiazol

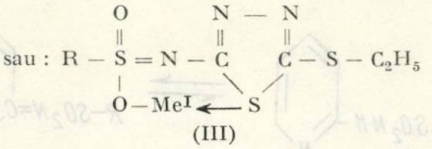
Nr. crt.	Ionul	Culoarea	pH-ul soluției complexate
1	Cu^{2+}	verde-gălbui	4 —4,5
2	Co^{2+}	roz-albăstrui	5
3	Ni^{2+}	alb-albăstrui	5
4	Pb^{2+}	alb	5
5	Fe^{3+}	alb-gălbui	1 —1,5
6	Bi^{3+}	alb-microcristalin	0,5—1

DISCUTAREA REZULTATELOR

Avînd în vedere posibilitățile de tautomerie a compușilor luați în lucru (2 amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazol) [26-34], ca și unele date din literatura de specialitate privind capacitatea de a forma complecși chelați ai unor substanțe intrate deja în arsenalul reactivilor organici analitici, precum și unele date experimentale, considerăm că ionii metalici formează cu substanțele noastre complecși de tipul :



(I) (II)



(III)

Luăm în considerație în primul rînd faptul că în timpul reacției de complexare se produce o deprotonare, ceea ce are drept consecință scăderea pH-ului în timpul reacției (pH-ul de pornire este 8,5 iar final, după complexare, pH-ul ajunge la valoarea 5).

Protonul disponibil este cel din gruparea sulfonamidică.

Cationii folosiți de noi în reacția de complexare au structuri nesaturate (Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}) și de 18 + 2 (Pb^{2+}, Bi^{3+}).

În cazul acestor ioni, ținînd seama de lucrările lui H. Irving și R. J. P. Williams [35], stabilitatea complecșilor generați este funcție de sarcină, rază, potențialul de ionizare și numărul electronilor *d* :

$Fe^{3+} > Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+}$

0,60Å 0,72 Å 0,69 Å 0,80 Å

d^5 d^7 d^8 d^9

Acești ioni prezintă tendința de a forma complecși atît cu liganzi cu C, N, S, X, cît și cu liganzi cu O, F ; tendința este funcție de sarcină

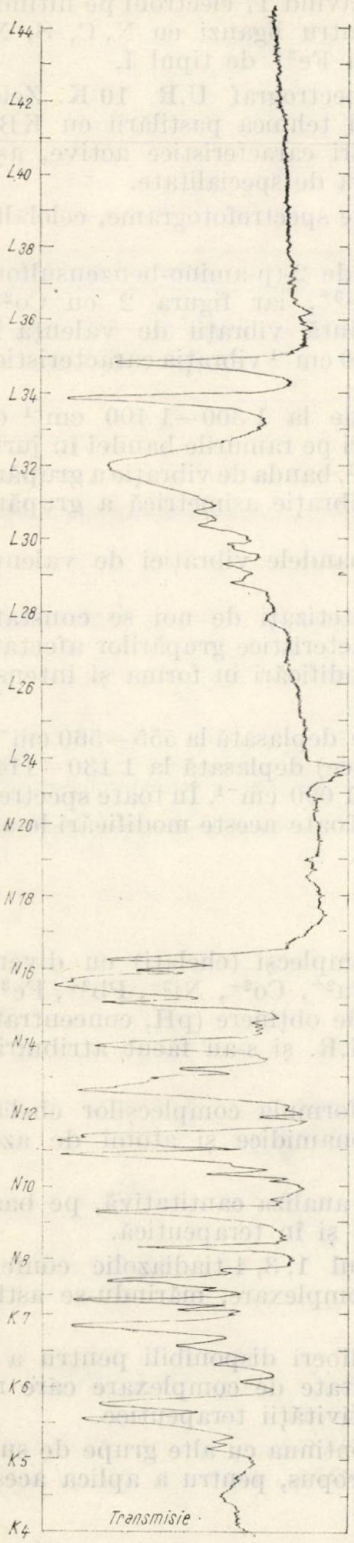

L44
L42
L40
L38
L36
L34
L32
L30
L28
L26
L24
N20
N18
N16
N14
N12
N10
N8
K7
K6
K5
K4
Transmisie

Fig. 1

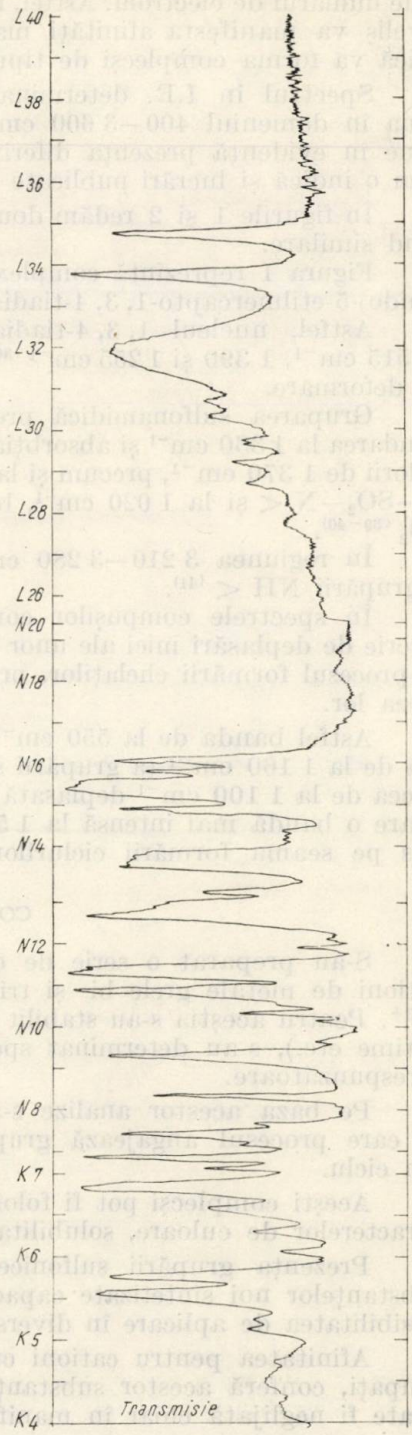

L40
L38
L36
L34
L32
L30
L28
L26
N20
N18
N16
N14
N12
N10
N8
K7
K6
K5
K4
Transmisie

Fig. 2

și de numărul de electroni. Astfel, ionul Cu^{2+} avînd 17 electroni pe ultimul înveliș va manifesta afinități mai mari pentru liganzi cu N, C, S, X, adică va forma complecși de tipul II, iar la Fe^{3+} de tipul I.

Spectrul în I.R. determinat la un spectrograf U.R. 10 K. Zeiss Jena în domeniul 400—3 600 cm^{-1}, folosind tehnica pastilării cu KBr, pune în evidență prezența diferitelor grupări caracteristice active, așa cum o indică și lucrări publicate în literatura de specialitate.

În figurile 1 și 2 redăm două din aceste spectrofotograme, celelalte fiind similare.

Figura 1 reprezintă complexul format de 2-(p-amino-benzensulfonamido)-5-etilmercapto-1, 3, 4-tiadiazol cu Fe^{3+}, iar figura 2 cu Co^{2+}.

Astfel, nucleul 1, 3, 4-tiadiazolic prezintă vibrații de valență la λ 1515 cm^{-1}, 1 390 și 1 255 cm^{-1} [36-38] și la 550 cm^{-1} vibrația caracteristică de deformare.

Gruparea sulfonamidică prezintă bande la 1 300—1 400 cm^{-1} cu scindarea la 1 330 cm^{-1} și absorbția prin coturi pe ramurile bandei în jurul valorii de 1 370 cm^{-1}, precum și la 1 160 cm^{-1}, banda de vibrație a grupării $R-SO_2-N<$ și la 1 020 cm^{-1}, banda de vibrație asimetrică a grupării SO_2 [39-40].

În regiunea 3 210—3 280 cm^{-1} apar bandele vibrației de valență a grupării $NH<$ [41].

În spectrele compușilor complecși sintetizați de noi se constată o serie de deplasări mici ale unor bande caracteristice grupărilor afectate în procesul formării chelaților, precum și modificări în forma și intensitatea lor.

Astfel banda de la 550 cm^{-1} se găsește deplasată la 555—560 cm^{-1}, cea de la 1 160 cm^{-1} (a grupării sulfonamidice) deplasată la 1 130—1140 și cea de la 1 100 cm^{-1} deplasată la 1 080—1 090 cm^{-1}. În toate spectrele apare o bandă mai intensă la 1 550 cm^{-1}. Toate aceste modificări le-am pus pe seama formării ciclurilor chelatice.

CONCLUZII

S-au preparat o serie de compuși complecși (chelați) cu diverși cationi de metale grele bi- și trivalente : Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3+}. Pentru aceștia s-au stabilit condițiile de obținere (pH, concentrații optime etc.), s-au determinat spectrele în I.R. și s-au făcut atribuirile corespunzătoare.

Pe baza acestor analize s-a stabilit formula complecșilor chelați în care procesul angajează grupările sulfonamidice și atomi de azot din ciclu.

Acești complecși pot fi folosiți atît în analiza cantitativă, pe baza caracterelor de culoare, solubilitate etc., cît și în terapeutică.

Prezența grupării sulfonice pe nucleul 1, 3, 4-tiadiazolic conferă substanțelor noi sintetizate capacități de complexare, mărindu-se astfel posibilitatea de aplicare în diverse domenii.

Afinitatea pentru cationi cu orbitali liberi disponibili pentru a fi ocupați, conferă acestor substanțe o capacitate de complexare care nu poate fi neglijată chiar în manifestările activității terapeutice.

Cercetările noastre în acest sens vor continua cu alte grupe de substanțe sintetizate de noi în scopul inițial propus, pentru a aplica acești

reactivi în analiza cantitativă, ca şi pentru a găsi metode de dozare pentru compuşii noi obţinuţi. De asemenea, se va urmări în ce măsură activitatea terapeutică este sau nu potenţată prin formarea de complecşi.

BIBLIOGRAFIE

1. SCHUBERT Y. — Chelation in medicine, *Science*, 1966, *40*, 214.
2. LAPIÈRE L.C. — *J. Pharm. Belg.*, 1968, 3—4, 115—154.
3. FRISK A.R. — Acta med. scand., 1943, supl., *142*, 1 ; C.A., (N.Y.), 1944, 38, 4 692.
4. JENSEN H. K. şi colab. — *Dansk. T. Farm.*, 1941, 15, 91.
5. RUSCHIG A. şi colab. — *Med. Chem.*, 1958, *6*, 61.
6. LAPIÈRE L. C. — *Farmaco, Ed. prat.*, 1960, *9*, 547—565.
7. ROBLIN O. R. şi colab. — *J. Am. chem. Soc.*, 1950, 73, 4 893.
8. CHUBB E., NISSENBAUM J. — *Canad. J. Chem.*, 1959, 37, 1, 121.
9. ERMILI A., CORTESE I. — *Farmaco, Ed. sci.*, 1963, *XVIII*, 8, 607.
10. LOUBATIÈRES A. — *Thérapie*, 1955, 10, 97.
11. LOUBATIÈRES A. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1956, 67, 185.
12. LOUBATIÈRES A. — *Méd. et Hyg.* (*Genève*), 1960, 18, 788.
13. LOUBATIÈRES A. — *C.R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1967, 265 (Série D), 643.
14. LOUBATIÈRES A. — *C.R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1968, 267 (Seria D), 236.
15. LOUBATIÈRES A. — *Arzneimittel-Forsch.*, 1969, 8 a, 1 354.
16. OLESON J. J. şi colab. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1955, 77, 6 713.
17. BRUCKENOLL J. J., DAG M. — *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 1956, 2, 97.
18. SCHAPIRO M. D. şi colab. — *Chem. Abstr.*, 1958, 52, 578.
19. PNEVMATICAKIS G., STAHIS E., — *Chem. Industr.*, 1963, 1 240.
20. PNEVMATICAKIS G., STAHIS E., FIELDS K. E. — *J. Inorg. Nuclear Chem.*, 1966, 28, 2 059.
21. POPPER E. — Lucrările prezentate la Conferinţa naţională de farmacie, Bucureşti, 1958.
22. POPPER E., PITEA IULIA — *Farmacia* (*Buc.*), 1968, 4, 1 963.
23. OŢELEANU D. — *Farmacia* (*Buc.*), 1972, XX, 9, 525—534.
24. OŢELEANU D. — *Farmacia* (*Buc.*), 1972, XX, 8, 485—492.
25. DOSTAL K., KOLBACH D. — *Acta Pharm. Jug.*, 1961, 11, 15.
26. GUHA C. P. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1922, *44*, 1 502 ; 1923, *45*, 1 036.
27. JANNIAH S. L., GUHA C. P. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1930, 52, 4 860.
28. MENIN J., GIUDICELLI J. F. — *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1965, 261, 766.
29. NAJER H., MENIN J., GIUDICELLI F. G. — *C. R. Acad. Sci.* (*Paris*), 1964, 259, 2 868.
30. TESTA E., GALLO G. G., FAVA E., WEBER G. — *Gazz. Chim. ital.*, 1958, 88, 812.
31. STANOVNIK B., TISSLER M. — *J. Org. Chem.*, 1960, 25, 2 234.
32. PALA G. — *Ann. Chim.* (*Roma*), 1959, 49, 1 464.
33. KATRITSKY A. R., LAGOVSKY J. M. — *Advanc. Heterocycl. Chem.*, 1963, 2, 27.
34. SIMITI I., PROIROV LIDIA, IONESCU C., SCHWARTZ I., ILIESCU TR. — *Farmacia* (*Buc.*), 1969, 9, 519.
35. IRVING H., WILLIAMS P.J.R. — *J. Chem. Soc.*, 1953, 3 192.
36. KATRITZKY A. R. — *Physical methods in heterocyclic chemistry*, vol. II, Academic Press Inc, New-York, 1963, p. 232—234.
37. GOERDLER J., OHM J., TEGTMEYER O. — *Chem. Ber.*, 1956, 89, 1 534.
38. RAO C. N. R., VEN KATARAGHAVAN R. — *Canad. J. Chem.*, 1964, 42, 63.
39. BAXTER AL. — *J. Chem. Soc.*, 1955, 5, 669.
40. NAKANISHI KOJI — Infrared absorption — Spectroscopy — Practical, Holden-Day Inc., San Francisco — Tokyo, 1964, pag. 216.
41. BELLAMY L. J. — The infrared spectro of complex molecules, London, 1959, p. 95.

Articol intrat în redacţie la 13.V.1974

Indicele de clasificare : 615—012

SUMMARY

D. Oţeleanu, Gh. Morait — COMPLEXES OF SOME 2-(P-AMINO-BENZENE-SULPHONAMIDE)-5-R-MERCAPTO-1,3,4-THIADIAZOLE DERIVATIVES WITH BI- AND TRIVALENT METALS. NOTE I

A series of chelate compounds were prepared with various bi- and trivalent metal cations : Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3+}. For this purpose the working conditions were established (pH, optimal concentrations, etc.) and the spectra in infrared light determined.

On the basis of these analyses the formules of the chelate complexes, in which sulphonamide groups and nitrogen atoms from the cycle are taken up, were established. These complexes can be used for quantitative analysis, owing to their staining properties, solubility, etc. and therapeutically.

The presence of the sulphone group on the 1,3,4-thiadiazol nucleus confers upon the newly synthetized substances an increased complexing potential and therefore a wider range of applicability in various domains.

The affinity for cations with free available orbitals likewise increases their complexing capacity account of which must be taken in the effects of their therapeutical activity.

Further investigations will be carried out on the newly synthetized substances in view of their use as reagents for quantitative analysis and for finding methods of determination of the new compounds, as well for establishing to what extent therapeutical activity is potentiated or not by the formation of these complexes.

РЕЗЮМЕ

Д. Оцеляну, Т. Мораит — КОМПЛЕКСЫ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(Р-АМИНО-БЕНЗЕН-СУЛЬФОНАМИДО)-5-Р-МЕРКАПТО-1,3,4-ТИАДИАЗОЛОВ С 2- И 3-ВАЛЕНТНЫМИ МЕТАЛЛАМИ. СООБЩЕНИЕ I

Авторы получили ряд комплексных производных (келатовых) с различными катионами 2- и 3-валентных металлов: Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3+}. Для этих комплексов были установлены условия их получения — pH, максимальная концентрация и т.д. — были определены спектры в инфракрасных лучах и произведены соответствующие распределения.

На основании результатов этих анализов были установлены формулы комплексов-келатов, в которых процесс включает сульфонамидные группы и атомы азота из цикла.

Эти комплексы могут быть использованы как при количественном анализе на основании их культурных признаков, растворимости и т.д. — так и в рамках терапии.

Наличие сульфоновой группы в 1,3,4-тиадиазоловом ядре обусловливает у новых синтетизированных препаратов свойства комплексирования, увеличивая таким образом возможность их применения в различных областях.

Афинитет в отношении катионов с свободными орбиталами для их замещения создает у этих веществ способность комплексирования, которой не следует пренебрегать даже при проявлении терапевтической активности.

Исследования авторов будет продолжены с применением других синтезированных ими в начальных целях веществ для применения этих реактивов при количественном анализе, а также и изыскании методов количественного определения вновь полученных производных. Будет сследовано также в какой мере терапевтическая активность потенцируется или не потенцируется образованием

Studiul conservării și cedării vitaminelor din complexul B din diferite geluri *

Adriana Popovici, Valeria Pîrciu, A. Kovács

Lucrare efectuată în Laboratorul de tehnică farmaceutică (conf. dr. **L. Adam**) și Laboratorul de biochimie medicală (prof. dr. **A. Kovács**), I.M.F. Tîrgu-Mureș

REZUMAT *În studiul stabilității vitaminelor B_1, B_2 și B_6 din 7 baze de unguent s-au urmărit metodele analitice cele mai oportune pentru determinarea vitaminelor, evidențierea pe cale cromatografică a produșilor de degradare a tiaminei, precizarea limitei de conservare și selecția de vehicule stabilizate.*

Din studiul capacității de cedare a vitaminelor din complexul B din 10 baze de unguent reiese dinamica de cedare și cantitatea totală maximă de vitamine eliberate.

Cercetările efectuate asupra stabilității vitaminei B_1 din unele forme farmaceutice atrag atenția asupra posibilei sale degradări sub acțiunea căldurii, pH-ului alcalin, a agenților chimici, prin hidroliză a razelor U.V., a metalelor grele (1, 2, 24, 26, 31, 33).

Acțiunea biologică fiind dependentă de integritatea structurală, este necesară menținerea nucleului pirimidinic tiazolic și a punții metilenice intacte. Studiile efectuate asupra stabilității tiaminei în soluții (1, 3, 15, 16, 27, 30, 32, 42), capsule (41), pulberi și comprimate (14, 28, 40), drajeuri (31, 41) și supozitoare (36) semnalează pierderi pînă la 25—32% din cantitatea inițială după 8—21 luni de conservare.

Dintre stabilizanți, literatura recomandă clorhidratul de cisteină, mai eficace comparativ cu tioureea, acidul glutamic sau tocoferolul (1, 9, 27, 32, 37, 38).

Soluțiile apoase de riboflavină sînt sensibile la lumină, fotoliza ducînd la leucobază care în mediu alcalin, în prezența oxigenului, se transformă în lumiflavină. Prin tamponarea soluției la pH 5 descompunerea este de 1,2%, iar la pH 6, de 31% (1, 18, 21, 22, 25, 33). În soluții, degradarea după 21 de luni este de 24% (3, 9, 33), iar în drajeuri, de 52% (2). Conservarea optimă este oferită de capsule gelatinoase (41).

Vitamina B_6 sau piridoxina este sensibilă la lumină, radiații U.V., agenți oxidanți, căldură, dar e stabilă la aer, la încălzire și la un pH acid (3, 21, 23, 30, 41). Se semnalează scăderi de 16% vitamină B_6 în fiole, conservate 21 luni la temperatura camerei (3).

Frecventa utilizare pe care vitaminele din complexul B o prezintă în aplicațiile dermice ne-a determinat să urmărim :

* Lucrare comunicată la U.S.S.M., Filiala Mureș, Secția de farmacie, la 31.I.1974.

— gradul de stabilitate al vitaminelor din complexul B în unguente ;

— metode adecvate de determinare cantitativă ;

— capacitatea de cedare.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

MATERIAL ŞI METODE

Stabilitatea fizico-chimică a vitaminelor s-a cercetat din 7 baze de unguent (tabelul I) în care s-au încorporat : clorhidrat de tiamină 0,5%, riboflavină 0,25% şi piridoxină 1% (fiole). Ambalarea s-a făcut în cutii de aminoplast, parafinate şi păstrate la 25°, la întuneric.

Tabelul I

Compoziţia bazelor de unguent utilizate în studiul stabilităţii vitaminelor B_1, B_2 şi B_6

Ingredientele	Baza de unguent						
	Nr. I	Nr. II	Nr. III	Nr. IV	Nr. V	Nr. VI	Nr. VII
Alcoholum cetylicum	—	3,0	8,0	25,0	—	5,0	—
Alcoholum cetylstearilicus emuls.	—	—	—	—	30,0	—	—
Adeps lanae	—	5,0	—	—	—	—	—
Aqua destillata	—	—	65,0	45,0	50,0	—	86,0
Cera alba	—	3,0	—	—	—	—	—
Cholesterolum	—	2,0	—	—	—	—	—
Glycerolum	—	—	—	—	—	—	10,0
Methylcellulosum	—	—	—	—	—	—	4,0
Natrium laurylsulfuricum	—	—	0,5	—	—	—	—
Oleum cacao	—	—	6,5	—	—	—	—
Paraffinum liquidum	40,0	—	—	20,0	20,0	—	—
Polyaethylenglycolum 400	—	—	—	—	—	47,5	—
Polyaethylenglycolum 4 000	—	—	—	—	—	47,5	—
Polysorbatum 80	—	—	—	10,0	—	—	—
Vaselinum	60,0	87,0	20,0	45,0	50,0	—	—

Stabilitatea tiaminei în baze de unguent s-a cercetat timp de 14 zile, prin determinări cantitative a căror tehnică a fost adaptată de noi pentru a permite decelarea din unguente, paralel, prin metoda fluorometrică şi metoda fotocolorimetrică (Farmacopeea Română, ed. VIII-a). Metoda fluorometrică a necesitat precizarea următoarelor probleme : asigurarea extragerii cantitative a vitaminei cu un solvent selectiv, asigurarea unei oxidări în condiţii standard, menţinerea unui pH situat între 3,5 şi 4,5, optim pentru extragerea şi stabilitatea aneurinei (3, 8, 9, 12).

Încercările întreprinse au condus la concluzia că solventul cel mai adecvat este apa distilată acidulată cu acid clorhidric diluat la pH 3,5—4. Fluorescenţa tiocromului obţinut s-a apreciat la aparatul Spekol Carl Zeiss, cu dispozitiv F.K. la lungimea de undă de 360—370 nm, transmisie maximă cu lampa ultravioletă H. Q.E., sensibilitatea 200.

Paralel s-au efectuat determinări cantitative şi prin metoda fotocolorimetrică preconizată de Farmacopeea Română, Ed. a VIII-a pentru determinarea conţinutului în vitamina B_1 al comprimatelor.

S-a apreciat eficacitatea adăugirii unor stabilizanţi ca cisteina 0,2% bazei nr. I şi nr. IV. S-au cercetat şi produşi de degradare ai tia-

minei pe cale cromatografică (20—24), din lipogeluri și unguente hidrofile conservate 2—14 luni, comparativ cu unguente proaspăt preparate.

Conținutul în riboflavină s-a apreciat prin titrare acido-bazică (F.R. VIII), iar scăderea conținutului în piridoxină a fost urmărită prin determinări cantitative în mediu neapos, după F.R. VIII (fig. 1, 2 și 3). Pentru aprecierea capacității de cedare a celor trei vitamine, s-a urmărit dinamica de cedare din 10 baze de unguent aparținînd următoarelor tipuri : geluri de hidrocarburi, baze emulsii de tip U/A sau A/U, geluri de polietilenglicoli și hidrogeluri (tabelul II). Testarea s-a

Tabelul II

Compoziția bazelor de unguent utilizate în studiul dinamicii de cedare a vitaminelor B_1, B_2 și B_6

Ingredientele	Baza de unguent									
	Nr. I	Nr. II	Nr. III	Nr. IV	Nr. V	Nr. VI	Nr. VII	Nr. VIII	Nr. IX	Nr. X
Alcoholum cetylicum	—	3,0	8,0	18,0	—	—	—	—	—	—
Alcoholum cetylstearylicum emuls.	—	—	—	—	30,0	—	—	—	—	—
Adeps lanae	—	5,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Aqua destillata	—	—	65,0	50,0	50,0	—	70,0	82,5	86,0	70,0
Bentonitum	—	—	—	—	—	—	20,0	—	—	—
Cera alba	—	3,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Cholesterolum	—	2,0	—	—	—	—	—	—	—	—
Carboximethylcellulosum	—	—	—	—	—	—	—	—	4,0	—
Glycerolum	—	—	15,0	—	—	—	10,0	15,0	10,0	10,0
Natrium alginatum	—	—	—	—	—	—	—	2,5	—	—
Natrium laurylsulfuricum	—	—	0,50	—	—	—	—	—	—	—
Oleum cacao	—	—	6,5	—	—	—	—	—	—	—
Paraffinum liquidum	40,0	—	—	—	20,0	—	—	—	—	—
Polyaethylenglycolum 4 000	—	—	—	—	—	30,0	—	—	—	—
Polyaethylenglycolum 1 500	—	—	—	—	—	20,0	—	—	—	—
Propylenglycolum	—	—	—	—	—	40,0	—	—	—	—
Polyvinilalcoholum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20,0
Polysorbatum 80	—	—	—	7,0	—	—	—	—	—	—
Vaselinum	60,0	87,0	20,0	25,0	50,0	10,0	—	—	—	—

efectuat prin metoda dializei utilizate de noi și în cercetări anterioare (34, 35), la 37°, la intervale de 2—3 ore, timp de 48 de ore, punînd în evidență cantitativ vitaminele cedate, după metodele utilizate și în studiul stabilității. Dinamica de cedare, cît și cantitățile totale de vitamine cedate după 48 de ore din cele 10 baze de unguent sînt cuprinse în tabelul III și figurile 3, 4, 5 și 7.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Vitamina B_1 încorporată în cele 7 baze de unguent, prezintă scăderi apreciabile în conținut, în funcție de structura fizico-chimică a bazei de unguent, între 32 și 65% după 14 zile de conservare.

Conținutul cel mai ridicat în tiamină s-a înregistrat din hidrogelul de metilceluloză (66% prin metoda fluorometrică și 72% prin metoda fotocolorimetrică). O degradare mai accentuată se constată din lipogeluri și din unguentul hidrofil neionic, iar conținutul cel mai scăzut la unguentul anionic (38%). Diferența rezultatelor obținute prin cele două metode este în medie de 12% (fig. 1.).

Deoarece hidrogelul de metilceluloză a prezentat cea mai bună stabilitate dar nu se pretează la conservare, datorită tendinței de deshidratare, s-a încercat urmărirea stabilității vitaminei B_1 la două baze care și-au menținut un conținut ridicat în vitamină.

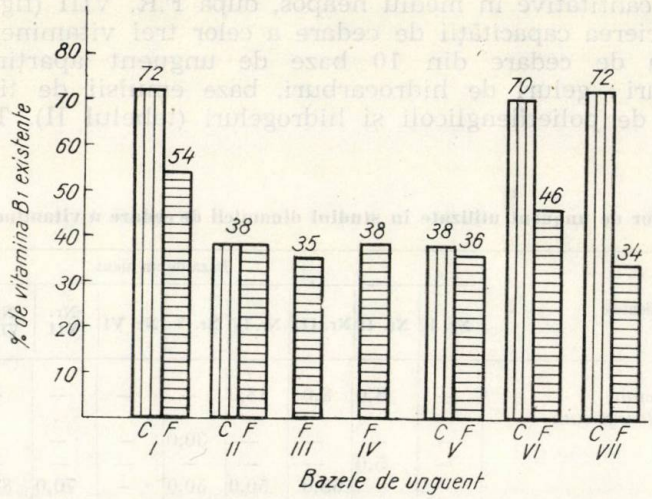


Fig. 1. — Stabilitatea clorhidratului de tiamină în unguente, după 14 zile de conservare

C = Metoda fotocolorimetrică. F = Metoda fluorometrică. I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogel de metilceluloză.

Adaosul unor stabilizanți ca clorhidratul de cisteină 0,20% protejează vitamina B_1, menținînd un conținut de 72% în geluri de hidrocarburi și de 70% în geluri de polietilenglicoli, cum semnalează și alți autori (38) (fig. 1).

Stabilitatea tiaminei descrește în ordinea : hidrogel de metilceluloză, gel de hidrocarburi, gel de polietilenglicoli, lipogel, unguent hidrofil neionic, unguent hidrofil cu ceară emulgatoare și unguent hidrofil anionic, după două săptămîni de conservare, ceea ce atrage atenția asupra necesității utilizării acestor unguente în timp limitat.

Prin cromatografie pe hîrtie se evidențiază, după tratare cu amestec de albastru de bromfenol și reactiv Tollens, purine și pirimidine provenite din lipogelul cu vitamina B_1 conservat 14 luni. În cazul unguentului hidrofil neionic cu vitamină, conservat două luni, nu s-au obținut produși de degradare a vitaminei.

La prepararea unguentelor cu vitamina B_1, se vor evita bazele cu pH alcalin, hidratarea avansată, expunerea la lumină și încălzire. Bazele anhidre contribuie la conservarea tiaminei, ca și prezența unor glicoli (glicerina), unor stabilizanți (cisteina) și macromolecule hidrofile inerte (metilceluloză, polietilenglicoli).

Vitamina B_2, a cărei stabilitate a fost apreciată după 4 și 14 zile de la preparare, prezintă pierderi pînă la 75%, fără diferențe semnificative între bazele studiate (fig. 2).

Adaosul unor stabilizanți ca acidul ascorbic 0,5% nu mărește stabilitatea riboflavinei, menținînd un conținut de 26% în gelul de hidrocarburi și de 27% în gelul de polietilenglicoli.

Riboflavina se degradează repede din baze de unguent, ceea ce atrage după sine prepararea bazelor cu vitamină B_2 în cantităţi mici, la nevoie, care se vor conserva maximum 4 zile.

Se preferă încorporarea riboflavinei în baze de unguent anhidre şi se vor evita bazele de peroxizi, cu pH alcalin şi expunerea la lumină.

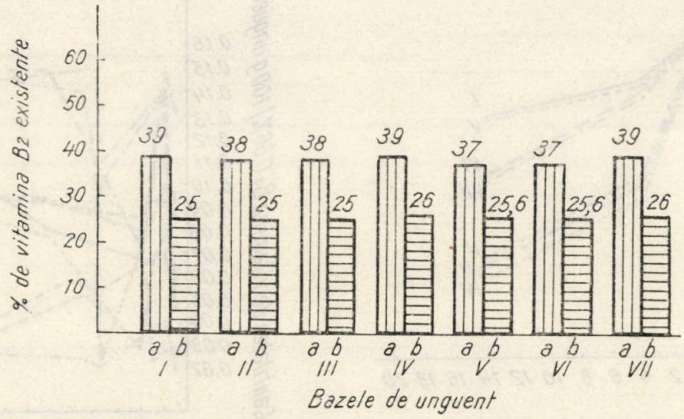


Fig. 2. — Stabilitatea riboflavinei în unguente, după 4 şi 14 zile de conservare

a = 4 zile ; b = 14 zile. I = Gel de hidrocarburi. II= Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogel de metilceluloză.

Vitamina B_6 este mai stabilă în gelul de hidrocarburi şi unguentul hidrofil cu ceară emulgatoare, în care se menţine o proporţie de 82% vitamina B_6 după 14 zile de conservare.

Stabilitatea descreşte în următoarea ordine : gel de hidrocarburi (82%), unguent hidrofil cu ceară emulgatoare (82%), hidrogel de metilceluloză (71%), gel de polietilenglicoli (70%), lipogel (52%), unguent hidrofil anionic (52%) şi unguent hidrofil neionic (47%) (fig. 3).

Bazele hidrofile cu ceară emulgatoare nu deranjează stabilitatea vitaminei B_6, ca şi macromoleculele de tipul metilcelulozei sau polietilenglicolului.

La prepararea unguentelor cu piridoxină se vor prefera bazele cu pH slab acid şi lipsite de peroxizi.

În ceea ce priveşte capacitatea de cedare, vitamina B_1 este cedată în cea mai mare proporţie din baze hidrofile, în special din unguentul hidrofil neionic (baza nr. 14, 0,76%) şi hidrogelul de alcool polivinilic (baza nr. X, 0,73%), iar cantităţi limitate sînt cedate din geluri cu bentonită (0,15%) (fig. 4, tabelul III).

Se deduce că hidratarea unor baze de unguent (hidrogelul de alcool polivinilic, unguentul hidrofil neionic) şi prezenţa glicolilor (propilenglicol, glicerină, în bazele nr. VI şi nr. III) facilitează transferul tiaminei. Dinamica de cedare este mai intensă în primele 10—12 ore, apoi viteza de dializă diminuează sau rămîne constantă.

Deşi cedarea cea mai bună a tiaminei este din unguentul hidrofil neionic, totuşi stabilitatea este necorespunzătoare după cum a reieşit din studiul degradării sale în timp. Din acest motiv, se recomandă pen-

tru includerea tiaminei gelul cu polietilenglicoli, preparat după formula : polietilenglicol 4 000 30 g, polietilenglicoli 1 500 20 g, propilenglicol 40 g, vaselină 10 g, cisteină clorhidrică 0,2 g.

Cantitatea de riboflavină dializată după 48 de ore din cele 10 baze de unguent, redată în figura 5 şi tabelul III, indică o cedare foarte

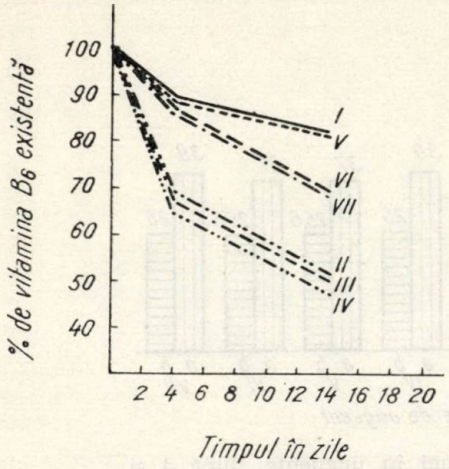


Fig. 3. — Stabilitatea clorhidratului de piridoxină în unguente, după 4 şi 14 zile de conservare

I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicol. VII = Hidrogel de metilceluloză.

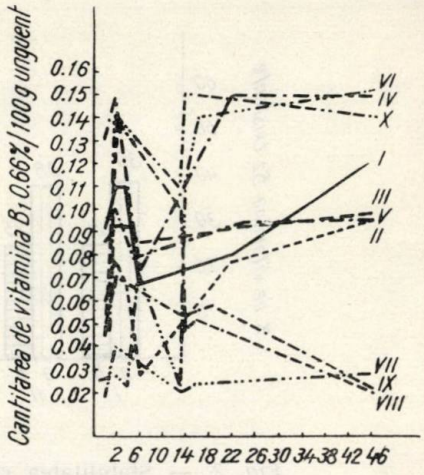


Fig. 4. — Dinamica de cedare a vitaminei B_1 din baze de unguent

I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogen de bentonită 20%. VIII = Hidrogel de alginat de sodiu 2,5%. IX = Hidrogen de carbometilceluloză sodică 4%. X = Hidrogel de alcool polivinilic 20%.

bună din geluri cu polietilenglicoli (1,53%), hidrogelul de alginat de sodiu 2,5% (1,31%), alcool polivinilic (1,16%) sau de carboximetilceluloză sodică (1,22). Cantităţi mai reduse sînt obţinute prin includere în gel de hidrocarburi (0,42%) şi unguente hidrofile.

Ritmul de dializă al vitaminei este intens în primele 4—7 ore, după care diminuează şi din nou se măreşte după 28 de ore.

Tabelul III

Cantitatea totală de vitamină B_1, B_2 şi B_6 cedată de unguente

Baze de unguent	Cantitatea totală cedată după 48 de ore					
	Vitamina B_1		Vitamina B_2		Vitamina B_6	
	mg	%	mg	%	mg	%
Gel de hidrocarburi	134,0	0,581	112,0	0,425	93,9	0,439
Lipogel	30,0	0,397	164,2	0,562	84,1	0,381
Unguent hidrofil anionic	145,0	0,544	181,2	0,527	82,5	0,367
Unguent hidrofil neionic	140,0	0,762	171,8	0,505	91,9	0,416
Unguent cu ceară emulgatoare	77,0	0,325	178,7	0,475	77,4	0,359
Polietilenglicol-gel	147,0	0,616	429,3	1,530	170,5	0,685
Hidrogel de bentonită	36,0	0,155	363,5	1,150	167,4	0,654
Hidrogel de alginat	106,4	0,422	357,6	1,310	150,3	0,659
Hidrogel de CMC-Na	85,8	0,306	361,7	1,220	172,7	0,728
Hidrogel de alcool-polivinilic	169,1	0,735	405,9	1,160	220,6	0,943

Cantitativ, riboflavina este cedată mai intens, comparativ cu tiamina (fig. 7).

Se constată că hidrogelurile favorizează atît pasajul riboflavinei, cît şi macromoleculele de tipul polietilenglicolilor. Prezenţa vaselinei

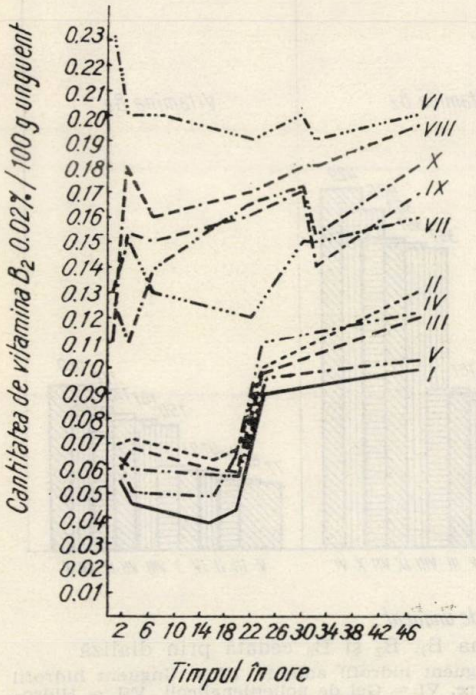


Fig. 5. — Dinamica de cedare a vitaminei B_2 din baze de unguent

I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogen de bentonită 20%. VIII = Hidrogel de alginat de sodiu 2,5%. IX = Hidrogen de carbometilceluloză sodică 4%. X = Hidrogel de alcool polivinilic 20%.

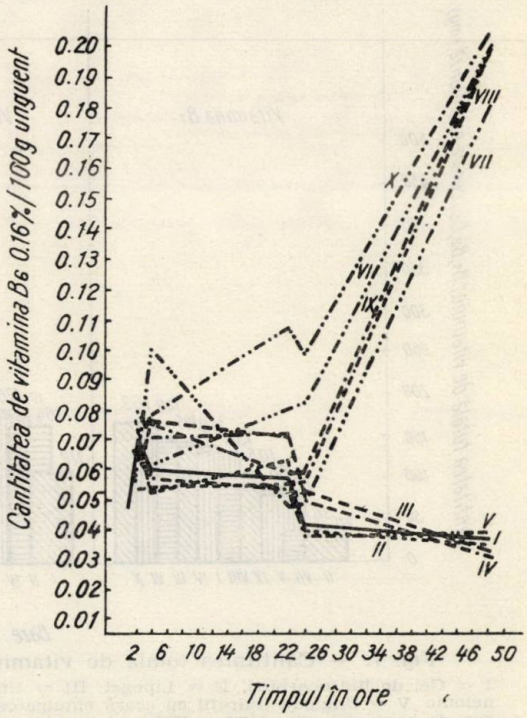


Fig. 6. — Dinamica de cedare a vitaminei B_6 din baze de unguent

I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogen de bentonită 20%. VIII = Hidrogel de alginat de sodiu 2,5%. IX = Hidrogen de carbometilceluloză sodică 4%. X = Hidrogel de alcool polivinilic 20%.

(baza nr. 1) cît şi a agenţilor tensioactivi (bazele nr. III, IV, V) nu favorizează cedarea.

Deoarece degradarea din toate bazele de unguent studiate este egală în intensitate, se va prefera o bază cu polietilenglicoli (nr. VI) sau cu alginat de sodiu (nr. VIII), din care cedarea este bună.

Rezultatele determinărilor cantitative obţinute în cazul cedării piridoxinei sînt redate în figura 6, iar cantităţile totale în tabelul III şi figura 7. Din aceste date se observă o cedare maximă din hidrogelul de alcool polivinilic (0,94%) şi de carboximetilceluloză sodică (0,72%), o cedare medie din geluri cu polietilenglicoli (0,68%) ; cantităţi reduse sînt cedate din hidrogeluri, unguente hidrofile. Cantităţile cele mai mici sînt eliberate din lipogeluri (0,38%) şi din unguentul hidrofil anionic (0,36%) (bazele nr. II şi III).

Hidratarea avansată a hidrogelurilor favorizează cedarea vitaminei B_6. Agenţii tensioactivi nu au un efect favorabil, micşorînd can-

titatea de vitamină dializată (baza nr. III). Prezența glicolilor este favorabilă în structura hidrogelurilor.

Vitamina B_6 este cedată în primele ore în cantități mici, iar în timp dinamica de dializă se intensifică brusc, în special în cazul hidro-

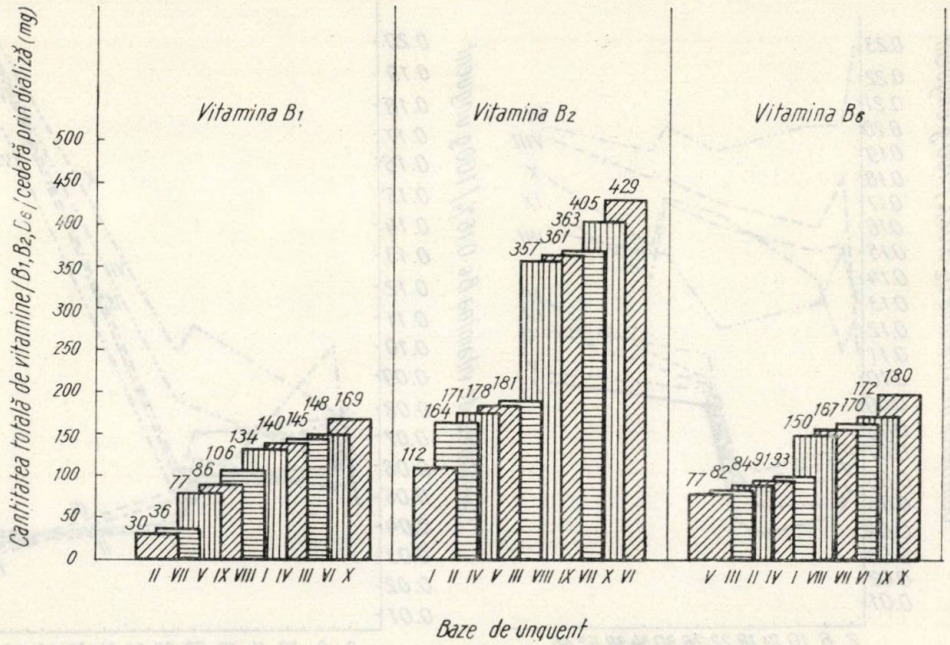


Fig. 7. — Cantitatea totală de vitamina B_1, B_2 și B_6 cedată prin dializă

I = Gel de hidrocarburi. II = Lipogel. III = Unguent hidrofil anionic. IV = Unguent hidrofil neionic. V = Unguent hidrofil cu ceară emulgatoare. VI = Gel de polietilenglicoli. VII = Hidrogen de bentonită 20%. VIII = Hidrogel de alginat de sodiu 2,5%. IX = Hidrogen de carbometilceluloză sodică 4%. X = Hidrogel de alcool polivinilic 20%.

gelurilor și gelului cu propilenglicoli. În cazul celorlalte baze studiate, cantitatea de piridoxină cedată este intensă în primele 20—22 de ore, după care se micșorează treptat (fig. 6).

Deoarece bazele de unguent care oferă stabilitatea maximă cedează greu vitamina B_6, se va prefera încorporarea în gel de polietilenglicoli (baza nr. VI), la care atît, cedarea cît și stabilitatea sînt bune.

Din figura 7 se observă că cele mai mari cantități sînt eliberate din unguentele cu vitamina B_2, iar cele mai mici în cazul unguentelor cu vitamina B_6.

Din datele experimentale obținute se deduce că datorită caracterului hidrofil al vitaminelor din complexul B se favorizează o cedare maximă a acestora din unguentele preparate cu macromolecule hidrofile, de tipul alcoolului polivinilic, al gelului cu polietilenglicoli, al alginatului de sodiu și se constată o cedare mai redusă din unguente emulgatoare mixte, geluri de hidrocarburi și lipogeluri.

CONCLUZII

1. Scăderile în conținutul de vitamină B_1 în unguente ajung pînă la 50%, după 14 zile de conservare. Stabilitatea tiaminei este formată de hidrogeluri semisintetice și sintetice, în prezența cisteinei (0,2%)

ca stabilizant. Cedarea este avantajată de baze hidrofile. Se recomandă includerea sa în gel de polietilenglicoli, în prezența cisteinei, pentru o durată de 7 zile.

2. Degradarea vitaminei B_2 în baze de unguent este de 75%, după două săptămîni de la preparare. Gelurile de polietileniglicoli și hidrogelurile cedează cel mai bine riboflavina. Se recomandă includerea sa în hidrogel de alginat de sodiu 2,5% sau gel de polietilenglicoli, în cantități reduse, la nevoie cu o durată de conservare de 4 zile.

3. Vitamina B_6 este stabilă în geluri de hidrocarburi și în unguentul hidrofil de ceară emulgatoare, în care se menține în proporție de 82% după 14 zile, și este degradată pînă la 48% în lipogeluri și unguente hidrofile anionice.

Cedarea este favorizată de hidrogeluri sintetice și semisintetice. Se indică încorporarea sa în hidrogeluri.

BIBLIOGRAFIE

1. BAN P. — Soluții injectabile cu vitamine hidrosolubile, *Farmacia (Buc.)*, 1970, *XVIII*, 1, 1—5.
2. BERAL H., MUREA L., RUSSU L., IACOB A. — Studiul conservării vitaminelor A, B_1, B_2 și C din produsele viplex și polivitamine, *Farmacia (Buc.)*, 1961, *IX*, 7, 403—410.
3. BERAL H., MUREA L., RUSSU C., IACOB A. — Studiul conservării vitaminelor B_1, B_2, B_6 și PP din produsul „Complex B fiole", *Farmacia (Buc.)*, 1961, *IX*, 8, 501—540.
4. BERCOVICI M. — Dozarea fluorometrică a vitaminei B_2 din preparatele indigene în prezența celorlalte vitamine, *Revista de chimie*, 1958, 6.
5. BOISSIER I. R., TILLEMENT P. — *Ann. pharm. franç.*, 1969, 9—10, 595—600.
6. CHIOSA L., NEUMAN M. — Vitamine și antivitamine, Ed. medicală, București, 1955, p. 170—171 ; 199, 217—218 ; 228—239.
7. CIOCĂNELEA V., RUB-SAIDAC A., POPOVICI A. — Studii asupra unor noi forme galenice pentru copii : Sirop polivitaminat, *Farmacia (Buc.)*, 1965, *XIII*, 9, 513—518.
8. DEVIATNIN — Vitaminele, Moscova, 1948, p. 83, 157, 163. (traducere din limba rusă).
9. DJOURNO M., — Stabilizarea și conservarea hidrosolilor polivitaminați, *Prod. probl. pharm.*, 1967, 4, 153.
10. DOLUISIO T. J., SWINTOSKY J. V. — Factors influencing drug distribution in the body. Penetration of drugs trough biological membranes — storage and elimination-factors influencing routes of drug administration, *Amer. J. Pharm.*, 1965, 6—7, 144—68.
11. DUMITRIU R., ROXIN T. — Tratamentul bolilor de piele, Ed. medicală, București, 1970, p. 171—173.
12. FRAGNER J. — Vitamine, Chemie und Biochemie, 1965, vol. II, p. 1 515—1 530, 1 296—1 307, 1 348—1 354, 1 435—1 439.
13. GUILLOT M. — Stabilité et conservation des medicaments, *Prod. probl. pharm.*, 1967, 22, 49—55.
14. GUPTA M. — Estimation of thiamine hydrochloride in tablet preparation containing kaolin, *J. pharm. Sci.*, 1969, *31*, 5, 125—126.
15. HIGUCHI W. — Kinetics of Thiamine hydrolysis, *J. pharm. Sci.*, 1962, *51*, *4*, 354—364.
16. HÜTTENRAUCH R. — Kinetik des Thiaminabbaus in schwerem Wasser, *Pharmazie*, 1967, *22*, 9, 530.
17. HÜTTENRAUCH R. — Influența hidrotropă a acidului ascorbic asupra riboflavinei, *Pharmazie*, 1965, 20, 243, referat în : *Farmacia (Buc.)*, 1965, *XIII*, 8, 243.
18. HÜTTENRAUCH R. — Kinetische Untersuchungen über die Wechselwirkungen und Aabbaureaktionen wasserlöslicher Vitamine, *Pharmazie*, 1968, vol. XXI, nr. 3, p. 150—152.
19. IONESCU-STOIAN P., SAVOPOL E., ȘERBĂNESCU D., IONICĂ V. — Interacțiunea excipienților cu medicamente. Influența agenților ajutători macro-

moleculari asupra dializei unor substanţe medicamentoase, *Farmacia (Buc.)*, 1968, *XVI*, 3, 129—143.
20. IYER I. — Application of thin layer cromatographie technique for the estimation of vitamina B_1, *Indian J. Pharm.*, 1969, 31, 2.
21. KATO Y., MAKIDA H. — Stability problems with some vitamins in pharmaceuticals, *Amer. J. Pharm.*, 1960, 132, 12, 433—455.
22. KOSTENBAUDER H. B., KUVARSKI — Absorbţia luminii şi fotoreactivitatea riboflavinei în prezenţa macromoleculelor, *J. pharm. Sci.*, 1965, 9, 1 243—1 251, referat în : *Farmacia (Buc.)*, 1966, *XIV*, 5, 314.
23. LANDERS I. C. — Aspekte der bereiteng von Vitamin B complex, Injections lösungen, *Pharmazie*, 1968, 103, 853.
24. LHOEST W., BUSSE L. W. — Nonenzymatic destruction of thiamine, *J. Amer. pharm. Ass.*, 1958, 47, 4, 254—258.
25. LUSON L. I., WEDENHEIMER — Stability of tetracycline and riboflavin, *J. pharm. Sci.*, 1969, 3, 355.
26. MACEK TH. — Stability problems with some vitamins in pharmaceuticals, *Amer. J. pharm.*, 1960, 132, 12, 433—455.
27. MIHĂILESCU F., SAVOPOL E. — Comportarea la autoclavare a soluţiei injectabile de tiamină, *Farmacia Buc.*, 1966, *XIV*, 2, 113—116.
28. KASSEM A. A., RAFAEL N., AMIN S. W., GHAZI F. — The choice of suitable vitamin B_1 salt for tablet manufacture, *Drug res.*, 1968, *I*, 2, 40—48.
29. MUREA LARISA — Studiul analitic al metodelor fizico-chimice de dozare a vitaminei B_1, *Farmacia (Buc.)*, 1959, *VII*, 1, 15—27.
30. NICOLOV ST., NEDELEVA L. — Stabilizing of solutions of vitamin B_6 for injections, *Farmatsiya (Sofia)*, 1966, 1 615, 35—36.
31. NÜRNBERG F. — Stabilizarea preparatelor galenice de vitamine, *Dtsch. Apoth.-Ztg.* 1969, 109, 29, 1 103—1 107.
32. PARKE, DAVIS CO. — Stabilized vitamin B_1 solutions, C., A., (N.Y.), 1958, 31, 990—1 047.
33. POPOVICI ADRIANA — Vitaminele în diferite forme farmaceutice, *Pract. farm.*, 1970, *III*, 51—68.
34. POPOVICI ADRIANA, ARDELEANU VIORICA — Cercetări asupra cedării unor derivaţi corticosteroidici solubili din baze de unguent, *Clujul med.*, 1971, 3, 661—668.
35. POPOVICI ADRIANA, IONESCU VIORICA, BECUŞ MIRELA — Unguente cu vitamine hidrosolubile. Nota II. Studiul capacităţii de resorbţie a acidului ascorbic din baze de unguent, *Farmacia (Buc.)*, 1971, *XIX*, 3, 157—163.
36. RIGAMONTI S., BROLLO DAL F., POLASEK G. — Sulla stabilita di alcuni derivate della tiamina in preparazioni farmaceutiche, *Boll. chim. farm.* 1959, *98*, 5, 259—260.
37. RIGAMONTI S. — Stabilita della soluzioni inietabili di vitamina B_1, în presenza di antiossidanti. *Boll. chim. farm.*, 1967, *103*, 5, 358—367.
38. SABRI M. I., MOHAN RAO V. K. — Stabilization of vitamins in pharmaceutical preparations. Effect of liver extract on the stability of vitamine, *Indian J. technol.*, 1966, *IV*, 6, 180—181.
39. SAGER R. W., BILLUPS N. — Microbiological and diffusion metodh for determining drug release characteristics from intment bases, *Amer. J. pharm.*, 1965, 3—4, 57.

Articol intrat în redacţie la : 25.III.1974

Indicele de clasificare : 615.356.13—014.155

SUMMARY

Adriana Popovici, Valeria Pîrciu, A. Kovács — STUDY OF THE CONSERVATION AND YIELDING OF B COMPLEX VITAMINS FROM DIFFERENT GELS

In a study on the stability of vitamins B_1, B_2 and B_6 in 7 different ointment bases, the authors investigated the best analytical methods for determination of the vitamins, chromatography of thiamine degradation products, the limit of conservation and selection of stable vehicles.

Study of the yielding of complex B vitamins from 10 ointment bases revealed the rate of the yield and the total maximum amount of vitamins yielded.

Sinteza unor 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-il)-ureei, cu eventuală activitate hipoglicemiantă

D. Oţeleanu, Maria Agnes Dimitriu

Disciplina de industria medicamentelor, Facultatea de farmacie, Bucureşti

REZUMAT *S-au sintetizat 7 produşi noi din clasa 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-il)-uree, prin reacţia dintre clorhidraţii 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor şi uree, în raport molar de 2,2/1, în anumite condiţii de mediu, temperatură etc. stabilite în lucrare.*

Pentru caracterizarea compuşilor obţinuţi s-au efectuat determinările cantitative de C, H, N, S, iar confirmarea structurii a fost efectuată prin studiul spectrelor în I.R.

În ultimele decenii, dinamica morbidităţii şi mortalităţii pe plan mondial a suferit modificări importante. Locul bolilor infecţioase a fost luat de bolile degenerative : cardiovasculare, diabet, neoplazii.

Diabetul zaharat *(diabetes mellitus)* este o boală cronică de nutriţie, datorată unor perturbări metabolice complexe, avînd drept cauză principală insuficienţa absolută sau relativă de insulină.

Tratarea diabetului cu insulină constituie metoda obişnuită şi cea mai bună de combatere a acestei maladii. Totuşi, administrarea parenterală, de obicei zilnică, a hormonului, alături de riscul accidentelor de infectare, reprezintă marele dezavantaj al acestei medicaţii.

De aici, interesul crescut pentru descoperirea unor medicamente hipoglicemiate care să fie administrate oral, cu atît mai mult cu cît diabeticul este un individ „condiţionat sănătos" şi capabil de muncă (1).

Aceste hipoglicemiante orale, introduse în clinică din 1955—56, au deschis noi perspective în chimioterapia diabetului, contribuind la cunoaşterea aprofundată a mecanismului fiziopatologic al acestei boli.

Medicamentele antidiabetice orale se încadrează în două grupe :

— derivaţi de sulfoniluree ;

— derivaţi de biguanidină.

Efectele secundare manifestate de unii din aceşti produşi, ca şi eficacitatea de scurtă durată a unui tratament cu derivaţi de sulfoniluree (2) au determinat continuarea cercetărilor în scopul obţinerii unor noi medicamente cu acţiune hipoglicemiantă.

Pe această linie se înscriu şi lucrările autorilor italieni A. Ermili şi I. Cortese (3, 5), care prepară o serie de urei tiadiazolice simetrice sau asimetrice din clasa 1,3-bis-(5-alchil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-uree, care confirmă în principiu afirmaţia referitoare la acţiunea hipoglicemiantă legată de acest heterociclu (6).

Determinările farmacologice efectuate de autori au dovedit că și acești compuși ai tiadiazolului prezintă o activitate hipoglicemiantă, demnă de o oarecare considerație.

În experiențe pe animale (șobolani) s-a constatat că aceste substanțe posedă o activitate hipoglicemiantă mai mică decît a tolbutamidei ; prin mărirea dozei nu s-a obținut o scădere a glicemiei, cum se întîmplă cu doze crescute de tolbutamid. Acest fapt determină pe autori să considere că mecanismul hipoglicemiant al substanțelor sintetizate nu este identic cu al tolbutamidei.

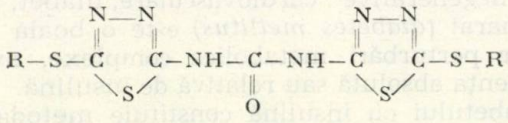
Produșii cei mai activi s-au dovedit a fi cei cu izopropil, izo-butil și terț-butil.

De asemenea, S. S. Tiwari și A. Swaroop (7, 8), în vederea obținerii unor noi agenți hipoglicemici orali, prepară fenilurei și tiazolilurei.

Pe de altă parte, nucleul 1,3,4-tiadiazolic intră în constituția unor compuși cu acțiune foarte variată.

Acest heterociclu se găsește în structura unor sulfamide care au dovedit activitate bacteriostatică (9—11), diuretică (12—14), hipoglicemiantă (15—22), citostatică (23—27), antituberculoasă (28) sau a unor compuși cu diverse utilizări : agenți de complexare a metalelor (29, 30), antioxidanți, inhibitori ai coroziunii, acceleratori la vulcanizare, eribicizi.

Avînd în vedere rezultatele obținute de colectivul disciplinei în domeniul unor derivați ai 2-amino-5-mercapto-1, 3, 4-tiadiazolului, cît și cercetările autorilor italieni, ne-am propus să sintetizăm o nouă clasă de compuși cu formula generală :

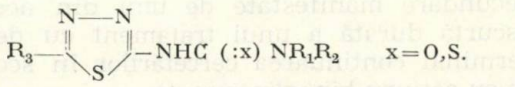


R = —H, —CH_3, —C_2H_5, —nC_3H_7 ... etc.

Numeroase articole apărute în ultima vreme arată că introducerea unor grupări alchilmercapto (—CH_2 —CH_2 —SH) în molecula arilsulfonilureilor duce la combinații mai active (31).

Literatura de specialitate menționează o serie de metode pentru prepararea ureilor simetric substituite (32, 33). După unele tatonări, am obținut rezultate pozitive, urmînd metoda cercetătorilor italieni (3—5), care tratează 2 moli clorhidrat de 2-amino-5-R-1,3,4-tiadiazol cu un mol uree.

R. Sato și H. Kubo (34, 35) prepară 1,3,4-tiadiazol-2-il urei sau tiourei cu formula generală :



prin reacția dintre 2-amino-5-alchil-1, 3, 4-tiadiazol și metilizocianat în mediu de dioxan, încălzind timp de 3 ore.

În cadrul cercetărilor noastre am preparat urei disubstituite simetric, tratînd clorhidrații 2-amino-5-R-mercapto-1, 3, 4-tiadiazolici cu uree, în raport molar 2/1 cu un exces de 10% clorhidrat în mediu de

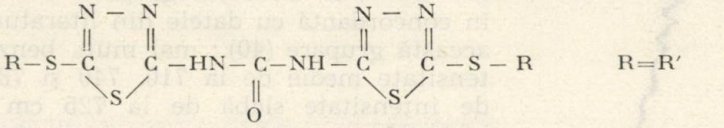
toluen anhidru. Am utilizat ca mediu de reacție apa și etanolul fără a obține rezultate.

Intermediarii folosiți, 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazoli, au fost preparați după metode expuse în lucrările noastre anterioare (36), iar clorhidrații acestora, necunoscuți în literatură, i-am obținut prin încălzirea la reflux în alcoolul etilic a 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolului cu acid clorhidric concentrat.

Am sintetizat astfel un număr de 7 compuși din seria 1,3-bis-(5-R-mercapto-tiadiazol-2-il)-uree, pe care nu i-am găsit citați în literatura consultată.

Acești produși sînt înscriși în tabelul I, în care sînt trecute randamentele, punctele de fuziune și solventul de cristalizare, ca și rezultatele de la microanaliza azotului și sulfului.

Tabelul 1



R=R'

Nr. crt.	R	Formula brută Greutatea moleculară	Rt%	Punctul de topire solventul de cristalizare	N%		S%	
					Calculat	găsit	Calculat	găsit
1	—H	$C_5H_4N_6S_4O$ 292	59	235° (etanol)	28,76	28,48	43,83	44,10
2	$-CH_3$	$C_7H_8N_6S_4O$ 320	63	218° (dimetilformamida)	26,25	26,00	40,00	40,25
3	$-C_2H_5$	$C_9H_{12}N_6S_4O$ 348	68	227° (dimetilformamida)	24,13	23,90	36,78	37,00
4	$-n.C_3H_7$	$C_{11}H_{16}N_6S_4O$ 376	75	248° (dimetilformamida)	22,34	22,18	34,05	34,30
5	$-i.C_3H_7$	$C_{11}H_{16}N_6S_4O$ 376	40	253° (dimetilformamida)	22,34	22,10	34,05	34,35
6	$-n.C_4H_9$	$C_{13}H_{20}N_6S_4O$ 404	70	238° (acid acetic-dioxan)	20,79	20,50	31,68	31,95
7	$-n.C_5H_{11}$	$C_{15}H_{24}N_6S_4O$ 432	65	230° (acid acetic)	19,44	19,60	29,62	30,05

Au fost executate și dozările de carbon și hidrogen care au fost găsite corespunzătoare.

Produșii rezultați sînt insolubili în apă, dar ușor solubili în mediu slab alcalin.

Structura noilor compuși a fost confirmată și prin studiul spectrelor în I.R. în domeniul cuprins între 400—3 600 cm^{-1} cu ajutorul unui spectrofotometru U.R.10 „Karl Ziess", folosind tehnica comprimării în bromură de potasiu.

Astfel, spectrele obținute au pus în evidență prezența în structura acestor compuși a diferitelor grupări caracteristice active în I.R. În figura 1 este prezentată una dintre spectrofotograme, celelalte fiind similare.

În spectrele compușilor tiadiazolici substituiți, preparați de noi, apar 3 benzi de intensitate medie și puternică, cuprinse între 1 540 și 1 560 cm^{-1}, 1 410 cm^{-1} și 1 230—1 250 cm^{-1}, care pot fi atribuite celor trei moduri de vibrație ale nucleului 1,3,4-tiadiazolic, deoarece valorile acestor maxime se deosebesc numai prin mici diferențe — datorită substituției — de valorile benzilor de absorbție ale nucleului ca atare (37).

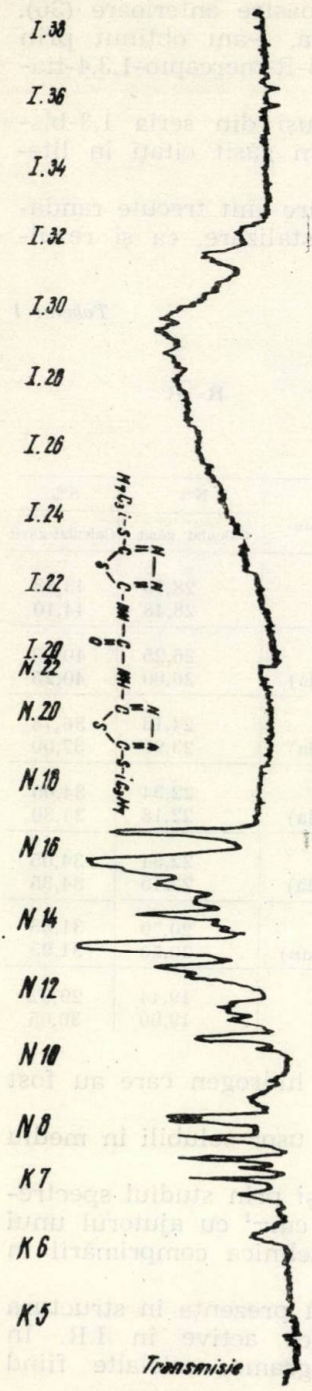


Fig. 1

Banda de absorbție slabă, care apare sub formă de cot la 3 130—3 160 cm^{-1}, este caracteristică vibrației de valență a grupării —NH— (39, 40).

Benzile de intensitate medie de la 810 și 830 cm^{-1}, și de intensitate foarte slabă la 630 cm^{-1}, le atribuim grupării-C-S-exociclice, în concordanță cu datele din literatură privind această grupare (40) ; mai mult, benzile de intensitate medie de la 710, 740 și 780 cm^{-1} și de intensitate slabă de la 725 cm^{-1} sînt în legătură cu existența structurii tioeterice în molecula compușilor sintetizați de noi.

Benzile cuprinse între 1 500 și 1 650 cm^{-1} sînt legate de existența în structura moleculară a grupării C=N, ciclice.

Banda foarte intensă de la 1 580 cm^{-1} este legată de vibrația grupării CO + NH, iar cea de la 1 640 cm^{-1} de vibrația grupării CO, ambele caracteristice ureilor substituite (41—44).

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Sinteza 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor s-a făcut după metoda indicată de noi în lucrările anterioare (36), iar clorhidrații prin tratare cu acid clorhidric concentrat în mediu de etanol, prin încălzire la reflux timp de două ore.

1,3-BIS-(5-IZOPROPIL-MERCAPTO-1,3,4-TIADIAZOL-2-IL)-UREE

Într-o soluție de 46,42 g (0,22 moli) clorhidrat de 2-amino-5-izopropil-mercapto-1,3,4-tiadiazol în 400 ml toluen anhidru, se adaugă sub agitare 6 g (0,1 moli) uree.

Se încălzește la reflux pe baia de ulei 5 ore, sub agitare.

După o jumătate de oră soluția își schimbă culoarea și apare un ulei care, pe măsură ce se încălzește, se solidifică. Se lasă în repaus 48 de ore, se esorează iar precipitatul se purifică din dimetil-formamidă.

Am obţinut 35,50 g (Rt% = 40%) compus nr. 5 cu p.t. = 253°, pulbere amorfă, incoloră, insolubilă în apă, parţial solubilă în etanol la cald, parţial solubilă în acid acetic la cald.

$C_{11}H_{16}N_6S_4O$	N% calculat = 22,34%	S% calculat = 34,04%
Gr. mol. = 376	N% găsit = 22,10%	S% găsit = 34,35%

Ceilalţi compuşi au fost sintetizaţi urmînd aceeaşi metodă, cu schimbarea numai a intermediarului, 2-amido-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol.

CONCLUZII

În scopul preparării unor urei disubstituite care să prezinte activitate hipoglicemiantă, am pus la punct o metodă de sinteză care ne-a permis obţinerea a 7 compuşi noi, necitaţi în literatură, din clasa 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-il)-uree.

Produşii se obţin prin reacţia dintre clorhidraţii 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor şi uree, în raport molar de 2,2/1, în mediu de toluen anhidru, la reflux. Pentru compuşii sintetizaţi s-au efectuat analizele elementare de azot şi sulf şi s-au executat spectrele în I.R., stabilindu-se absorbţiile caracteristice grupărilor de atomi din molecula acestor compuşi.

Vor urma testările orientative cu privire la acţiunea manifestată de produşii preparaţi de noi.

BIBLIOGRAFIE

1. MINCU I. — Boli de nutriţie şi diabet, Ed. didactică, Bucureşti, 1970.
2. ÖKER V. — Excerpta med. (Amst.), Sect. III, 140, Congres, Stockholm., 1967.
3. ERMILI A., CORTESE I. — *Farmaco, Ed. sci.*, 1963, *XVIII*, 8, 607—613.
4. ERMILI A., CORTESE I. — *Farmaco, Ed. sci.*, 1964, *XIX*, 3, 218—227.
5. ERMILI A., CORTESE I. — *Farmaco, Ed. sci.*, 1967, *XXII*, 6, 393—401.
6. LOUBATIÈRES A. — *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1956, *67*, 185.
7. TIWARI S. S., SWAROOP A. — *J. Industr. Chem. Soc.*, 1963, *40*, 394—396.
8. TIWARI S. S., SWAROOP A. — *J. Industr. Chem. Soc.*, 1964, *41*, *2*, 129—32. C.A. (N.Y.), 1964, *61*, 2, 1 849.
9. BAMBAS L. L. — *J. Amer. chem. Soc.*, 1945, *67*, 668.
10. FRISK A. R. — *Acta med. scand.*, 1943, *142*, 1.
11. JENSEN A. K., RASSING B., SCHMIDT K. — *Dansk T. Farm.*, 1941, *15*, 191.
12. LAPIÈRE L. C. — *Farmaco, Ed. prat.*, 1960, 9, 547—565.
13. ROBLIN O. R., MILLER W. H., DESSERT A. M. — *J. Am. chem. Soc.*, 1950, *72*, 4 890—4 893.
14. SELIM M., TÉTU O. — *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1965, 3 527.
15. JANBON M., CHAPAL J. — *Montpellier méd.*, 1942, *21—22*, 44.
16. JANBON M., LAZERGES P. — *Montpellier méd.*, 1943, *23—24*, 132.
17. BARGETON D., ROQUET J. — *Arch int. Pharmacodyn.*, 1965, *153*, 37, 9.
18. LOUBATIÈRES A. — *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1944, 138, 766.
19. LOUBATIÈRES A. — *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1944, 138, 840.
20. LOUBATIÈRES A. — *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1955, 241, 1 422.
21. LOUBATIÈRES A. — *Montpellier méd.*, 1955, 48, 618.
22. LOUBATIÈRES A. — *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 1956, 243, 420.
23. LALEZARI I., SHARGHI N. — *J. heterocyclic chem.*, 1966, 3, 336.
24. GAGIU FL., BEBEŞEL E. — *Farmacia (Buc.)*, 1968, 8, 320.
25. GAGIU FL., BEBEŞEL E. — *Farmacia (Buc.)*, 1969, 3, 169.
26. GAGIU FL., ZIMEL H., BEBEŞEL E. — *Farmacia (Buc.)*, 1969, 8, 483.
27. GAGIU FL., GYORFI Z. — *Farmacia (Buc.)*, 1969, 9, 525.
28. SCHRENS T. H. — *Klin. Wschr.*, 1942, 21, 14.
29. PIANKA M. — *J. Sci. Food. Agric.*, 1968, 19, 502.

30. PNEVMATICAKIS G., STAHIS E. — *Chem. Industr.*, 1963, 1 240.
31. BUDESINSKY Z., PERINA Z., ZIKMUND E. — I. Derivatives of ureea, thioureea and guanidine, *Čs. Farm.*, 1959, 8, 129.
32. * * * — I. G. Farbenindustrie, *A. G. Brit.*, 330 583/1929 ; C. A. (N.Y.), 1930, 24, 5 939.
33. VOGEL A. I. — A text book of practical organic chemistry, ed. a III-a, 1958, 645.
34. SATO R., HUBO H. — Hokko chemical Industry-Ger. Offen., 1921, 220/1969 ; C. A. (N.Y.), 1970, *72*, 9, 43685f.
35. KUBO H., SATO R. — *J. Agric. Food chem.*, 1970, 60—65.
36. OȚELEANU D. — Noi derivați ai 2-amino-5-mercapto-1,3,4-tiadiazolului, *Farmacia (Buc.), XX*, 9, 525.
37. KAYMADA K., MATSUI T. — C. A. (N.Y.), 1972, *76*, 3, 14551 m.
38. KATRITZKY A. R. — Physical methods in heterocyclic chemistry, Academic Press, New York — London, 1963, p. 2, 232.
39. BELLAMY L. J. — The infrared Spectra of Complex Molecules, London, 1959, New York, 1966, p. 95.
40. NAKANISHI KOJI — Infrared absorption Spectroscopy — Practical, Holden-Day. Inc., Tokyo, 1964, 216.
41. AVRAM MARGARETA, MATEESCU D. — Spectroscopia în infraroșu, aplicații în chimia organică, Ed. tehnică, București, 1968, 524.
42. DAVIES M., HOPKINS L. — *Trans. Faraday Soc.*, 1957, *53*, 1 563.
43. YAMAGOUCHI A., MIYAZAWA T., SHIMAMOUCHI T. — *Spectrochim. Acta.*, 1957, *10*, 170.
44. BECHER H. J. — *Chem. Ber.*, 1956, *89*, 1 593.

Articol intrat în redacție la 13.V.1974

Indicele de clasificare : 615—012

SUMMARY

D. Oțeleanu, Maria Agnes Dimitriu — THE SYNTHESIS OF 1,3-BIS-(5-R-MERCAPTO-1,3,4-THIADIAZOL-2-IL)-UREA COMPOUNDS WITH AND EVENTUAL HYPOGLYCEMIC ACTIVITY

With a view to preparing disubstituted urea compounds presenting hypoglycemic activity, the authors developed a method of synthesis by means of which they obtained 7 new compounds, not yet reported in the speciality literature, of the 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazol-2-il)-urea class.

The products are obtained by the reaction of 2-amino-5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazol hydrochlorate with urea, at a molar ratio of 2.2:1, in an anhydric toluene medium, in reflux. The newly synthetized compounds were subjected to nitrogen and sulphur analysis and the infrared spectrum determined, establishing the absorptions characteristic of the atom groups in the molecules of the new compounds.

Further orientative testing of the action of these products will be had in view.

РЕЗЮМЕ

Д. Оцеляну, Мария Агнесс Димитриу — СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ 1,3-БИС-(5-Р-МЕРКАПТО-1,3,4-ТИАДИАЗОЛ-2-ИЛ)-МОЧЕВИНЫ ВОЗМОЖНО ОБЛАДАЮЩИХ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ

Для приготовления некоторых двух замещенных мочевин, обладающих гипогликемическим действием, авторы уточнили метод синтеза, позволивший им получить 7 еще нецитированных в литературе производных класса 1,3-бис-(5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазол-2-ил-мочевины.

Эти произвожные были получены при помощи реакции между хлоргидратами 2-амино-5-Р-меркапто-1,3,4-тиадиазолами и между мочевиной при молярном соотношеннии 2,2/1 и в среде безводного толуена в условиях рефлюкса.

В отношении синтезированых производных были применены элементарные анализы азота и серы, были осуществлены спектры в инфракрасных лучах и были установлены условия абсорбции, характерные для атомных групп молекулы этих производных.

Ориентационные тестирование будут продолжаться в связи с действием проявленным этими приготовленными производными.

II. Concentrația acizilor nucleici din mușchiul și ficatul de iepure în timpul creșterii

Gh. NUță, St. Tămășdan, Denisa Mihele, Niculina Mitrea Vasilescu

Disciplina de biochimie și chimie sanitară, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT

Prezentul studiu are scopul de a analiza conținutul acizilor nucleici totali din mușchiul și ficatul de iepure în perioada de creștere. Perioadele de creștere la care s-au determinat concentrațiile acizilor nucleici în cele două țesuturi amintite sînt: 1, 7, 14, 21, 30 și 50 de zile.

Extracția și hidroliza acizilor nucleici s-au făcut cu acid percloric 0,5 N la cald. Stabilirea concentrației după hidroliză s-a efectuat în lumină ultravioletă. S-a constatat că acizii nucleici variază de la o perioadă de dezvoltare la alta în ceea ce privește concentrația și diferă de la un țesut la altul.

Rolul fundamental al acizilor nucleici în diviziunea celulară și biosinteza proteinelor a fost elucidat în ultimul timp, însă nu s-au clarificat în totalitate multiplele sale roluri. Un aspect nedefinitivat al cercetărilor este cel care se referă la concentrația acizilor nucleici în diferite țesuturi și la diferite specii de animale (1). Concluzii definitive nu sînt formulate, deoarece distribuția acizilor în celule și țesuturi este heterogenă. În plus, distribuția acizilor nucleici diferă de la un organ la altul, de la o specie la alta și de la un sex la altul, depinzînd de asemenea de hrana zilnică (4, 12, 13, 16, 17).

Rezultatele diferite sînt cauzate de metodele diferite care se folosesc pentru dozare (histochimice, colorimetrice, spectrofotometrice, cromatografice), precum și de exprimarea neunitară a rezultatelor (μmol. μg, mg), raportate la unitate de țesut umed sau uscat (1, 2, 3, 4, 16). Din aceste motive am considerat necesară continuarea studierii concentrației acizilor nucleici din mușchiul și ficatul de iepure în perioda de creștere.

METODĂ ȘI MATERIAL

Animalele de experiență au fost iepuri din rasa *Chinchilladae*, de sex masculin, divizați în 6 loturi a 6 animale în vîrstă de 1, 7, 14, 21, 30 și 60 de zile. Sacrificările s-au făcut după anestezie cu eter, prin decapitare.

S-au recoltat imediat probe de țesut din mușchiul vast lateral al coapsei și din ficat, în cantități cuprinse între 5 și 20 mg. Fiecare probă de țesut a fost supusă unei extracții cu acid percloric 0,5 N, iar după omogenizare, hidrolizată 30 de minute la fierbere. După răcire au fost

centrifugate la 5 000 de turații/minut, timp de 10 minute. Determinarea concentrației acizilor nucleici s-a făcut după metoda propusă de A. S. Spirin (14). Metoda permite să se calculeze concentrația fosfatului nucleic, cît și concentrația totală a acizilor nucleici, care se exprimă în μg.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Concentrația acizilor nucleici din mușchi la 24 de ore după naștere este în medie de 23 μg fosfat nucleic iar în ficat de 39,4 μg. Deci concentrația este mai mare în ficat decît în mușchi și se menține diferită pînă la vîrsta de 60 de zile. Concentrația fosfatului nucleic din mușchi scade nesemnificativ la vîrsta de 7 zile și semnificativ la vîrsta de 14 zile, cînd este de 17,97 μg. La vîrsta de 21 de zile și la vîrsta de 30 de zile concentrația fosfatului nucleic crește la valorile apropiate vîrstei de 24 de ore, adică la 24,97 μg. Concentrația fosfatului nucleic scade semnificativ la vîrsta de 60 de zile, cînd este de 16,51 μg, fiind cu 8 μg mai mică față de vîrsta de 30 de zile. Așa cum am amintit, concentrația fosfatului nucleic din ficat la 24 de ore după naștere este mai mare decît în mușchi și se menține crescută pînă la vîrsta de 60 de zile. În ficat și variația concentrației este diferită în comparație cu cea din mușchi în perioada de creștere pînă la 60 de zile. De exemplu, la vîrsta de 7 zile concentrația fosfatului nucleic este de 54 μg, fiind deci cu 14 μg mai mare. De la vîrsta de 7 zile pînă la vîrsta de 60 de zile, concentrația scade treptat, ajungînd să fie aproape la jumătate din valoarea calculată la 24 de ore după naștere. Rezultatele experimentale sînt prezentate în mod sistematizat în tabelele I și II.

Literatura de specialitate menționează mai mulți cercetători care s-au ocupat de acest subiect (1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10). În marea lor majoritate au studiat variația acizilor nucleici din mușchiul și ficatul de șobolan, la vîrste cu mult mai înaintate.

Detwiler și colab. (3) au studiat concentrația acizilor nucleici din ficatul și mușchiul de șobolan, de la vîrsta de 11 la 30,5 luni. Concluzia autorilor este că spre bătrînețe scade cantitatea de ARN din celule, dar crește în nuclei, datorită reducerii dimensiunii celulare.

Devi și colab. (4, 5,) au constatat că biosinteza ARN-ului este dependentă de ADN și se face mai intens în ficatul șobolanilor tineri decît la bătrîni, unde scade cu 10%. Rezultatele noastre nu pot fi comparate în totalitate cu cele publicate de Devi și colab., deoarece vîrstele studiate și animalele de experiență sînt diferite. Observația comună este că, în perioada de creștere, concentrația acizilor nucleici din mușchi este diferită de concentrația din ficat.

CONCLUZII

1. Concentrația acizilor nucleici din mușchiul și ficatul de iepure la vîrsta de o zi diferă în cele două țesuturi studiate.

2. În perioada de creștere de o zi la 60 de zile, concentrația acizilor nucleici în cele două țesuturi studiate se reduce treptat, dar diferit de la un țesut la altul.

3. Scăderea concentrației acizilor nucleici din ficatul de șobolan este semnificativă în perioada de creștere de la 7 zile la 60 de zile.

Tabelul 1

Concentraţia acizilor nucleici exprimată în μg fosfat, din muşchi şi ficat la iepure în perioada de creştere

Virsta	Muşchi	Ficat
24 de ore	22,94	42,80
	18,77	37,48
	19,74	36,90
	24,26	41,12
	26,46	38,06
	25,88	40,02
Media	23,00	39,40
Deviaţie standard	3,17	2,31
7 zile	21,3	52,40
	21,02	56,42
	20,81	54,16
	21,70	52,02
	22,62	53,17
	22,64	55,13
Media	21,68	53,88
Deviaţie standard	7,92	1,68
14 zile	18,82	38,95
	16,79	39,36
	16,42	37,44
	18,62	38,10
	19,07	37,82
	18,07	38,56
Media	17,97	38,32
Deviaţie standard	1,10	0,63
21 de zile	20,56	36,74
	19,32	36,90
	21,36	36,26
	21,24	41,60
	21,62	41,60
	22,40	39,76
Media	21,08	38,81
Deviaţie standard	1,05	2,49
30 de zile	24,32	25,34
	27,42	26,00
	23,69	25,46
	25,36	24,43
	24,84	29,60
	24,20	28,40
Media	24,97	26,53
Deviaţie standard	1,32	2,00
60 de zile	16,63	21,74
	18,26	20,63
	15,47	18,94
	14,65	19,75
	14,24	19,96
	15,80	20,20
Media	16,51	20,20
Deviaţie standard	1,69	0,94

Tabelul II

Concentraţia acizilor nucleici totali din muşchi şi ficat la iepure în perioada de creştere
(concentraţia corespunde la 100 mg ţesut umed, fiind exprimată în μg)

Vîrsta	Muşchi	Ficat
24 de ore	236,28	441,04
	193,35	386,04
	203,32	380,07
	249,87	423,53
	272,54	392,00
	266,56	412,20
Media	236,98	405,80
Deviaţie standard	33,68	23,83
7 zile	219,39	539,70
	216,50	581,12
	214,32	557,84
	223,51	535,80
	232,98	547,65
	233,19	567,84
Media	223,31	554,99
Deviaţie standard	18,17	17,38
14 zile	193,84	401,22
	173,02	402,07
	169,12	385,63
	191,78	388,62
	196,46	389,54
	184,18	397,16
Media	185,07	394,04
Deviaţie standard	11,42	7,01
21 de zile	211,77	378,42
	198,99	380,07
	220,00	373,47
	218,77	428,56
	222,68	428,50
	230,72	409,53
Media	217,16	399,75
Deviaţie standard	10,80	25,62
30 de zile	250,70	261,00
	282,42	267,80
	244,07	262,20
	261,20	251,67
	255,80	304,90
	249,46	292,50
Media	257,30	273,35
Deviaţie standard	13,62	20,68
60 de zile	171,35	223,92
	188,07	212,50
	159,38	195,08
	192,09	203,42
	146,67	205,59
	162,90	208,06
Media	170,08	208,09
Deviaţie standard	17,45	9,67

4. Concentrația acizilor nucleici din mușchiul de iepure este mai mică decît în ficat și scade nesemnificativ în perioada de creștere de la 7 zile la 60 de zile.

BIBLIOGRAFIE

1. BARROWS C. H., ROEDER L. M., HALZONE J. A. — *J. Geront.*, 1962, 17, 144.
2. BLOBEL G., POTTER V. R. — Science, 1966, 154.
3. BRITTON V. J., SHERMAN G. F., FLORIN J. R. — *J. Geront.*, 1972, 27, 188.
4. DETWILER T. C., DRAPER H. H. — *J. Geront.*, 1962, 17, 138.
5. DEVI A., LINDSAY P., RAINA P. L., SARKAR N. K. — *Nature*, 1966, 212, 474.
6. DEVI A., MUKUNDAR M. A., SRIVASTAVA U., SARKAR N. K. — *Exp. Cell. Res.*, 1963, 32, 242.
7. HOWARTH R. E. — *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1972, 50, 59 ;
8. HOWARTH R. E., BALDWIN R. L. — *J. Nutr.*, 1971, 101, 477.
9. HUTCHISON W. C., MUNRO H. N. — *Analyst.*, 1961, 86, 768.
10. LOHLER J., HEIMER D. — *Gerontologia (Basel)*, 1970, 18, 122.
11. MUKUNDAN M. A., DEVI A., SARKAR N. K. — *Exp. Cell. Res.*, 1963, 32, 251.
12. QUARTO DI PLO. F., MOMBELLI L. E., GASTALDI L. — *Gerontologia (Basel)*, 1964/1965, 10, 161 ;
13. POND W. G., SRACHAN D. N., SINHA Y. N., WALKER E. E., DUNN J. A., BARNES R. H. — *J. Nutr.* 1969, 99, 61.
14. SPIRIN A. S. — *Biokhimiya*, 1958, 23, 656.
15. VOLKIN E., COHN W. E., — Method of biochemical analysis, ed. Glick D., Interscience Publishers Inc., New-York, in : Estimation of nucleic acids, vol. I, 1954, p. 287 ;
16. WILSON P. D. — *Gerontologia (Basel)*, 1972, 18, 36 ;
17. WULFF V. J., FRESHMANN M. — Arch. Biochem. Biophys., 1961, 95, 181.

Articol intrat în redacție la : 12.VIII.1975.

Indicele de clasificare : 612.744—084:547.963.32.

SUMMARY

Gh. Nuță, St. Tămășdan, Denisa Mihele, Niculina Mitrea-Vasilescu — NUCLEIC ACID CONCENTRATIONS IN THE RABBIT MUSCLE AND LIVER DURING GROWTH. NOTE II

The present study was designed to analysis of the total nucleic acid content in the muscle and liver of the rabbit during growth, i.e. at 1, 7, 14, 21, 30 and 60 days.

Nucleic acids were heat extracted and hydrolyzed with 0.5 N perchloric acid, and the concentration obtained after hydrolysis determined in ultraviolet light. Nucleic acid concentrations varied from one growth period to another and from one tissue to another.

РЕЗЮМЕ

Д. Нуцэ. Шт, Тэмэшдан, Дениса Михеле, Никулина Митря-Василеску — СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В МЫШЦАХ И ПЕЧЕНИ КРОЛИКА ВО ВРЕМЯ ЕГО РОСТА. СООБЩЕНИЕ 2

Авторы исследовали содержание общих нуклеиновых кислот в мышцах и печени кролика во время его роста. Периоды роста, во время которых определялось содержание нуклеиновых кислот в этих двух категориях ткани были 1—7—14—21—30 и 50 дней. Извлечение и гидролиз нуклеиновых кислот производились при помощи H 0,5 соляной кислоты в тепле. Установление концентрации после гидролиза осуществлялось в ультрафиолетовых лучах и было констатировано, что нуклеиновые кислоты варьируют в зависимости от каждого периода развития что касается их концентрации, которая различается в зависимости от каждой стадии.

REFERAT

COMPOZIŢIA CHIMICĂ A LANOLINEI. STUDIU ASUPRA STEROLILOR ŞI ALCOOLILOR TRITERPENICI AI LANOLINEI TOTALE ŞI A DIVERSELOR SALE FRACŢIUNI, **F. Fawaz, M. Chaigneau, P. Puisieux,** Ann. pharm. franç., 1974, 32, 5, 301—308.

Lucrarea respectivă este rezultatul unor cercetări care au permis precizarea compoziţiei diverşilor constituenţi (hidrocarburi, acizi, alcooli alifatici) ai unei probe de lanolină. Lucrarea este consacrată studiului sterolilor şi alcoolilor triterpenici (trimetilsteroli).

Sterolii sînt formaţi în special din colesterol (cu urme de dihidrocolesterol) şi din 7-ceto colesterol.

Alcooli triterpenici cuprind lanosterol, dihidrolanosterol, 7-ceto-dihidrolanosterol şi, eventual, 7-ceto-lanosterol care nu a putut fi identificat.

În linii generale, se pare că sterolii şi alcoolii triterpenici prezenţi iniţial în ceara de lînă nu sînt foarte numeroşi, singurele constituente reale şi importante fiind colesterolul, lanosterolul şi dihidrolanosterolul.

Aceste rezultate, ca şi cele obţinute pînă acum, permit precizarea naturii diverselor grupe de constituenţi, în special a alcoolilor liberi şi a diverselor tipuri de esteri. Rezultatele demonstrează uimitoarea complexitate a compoziţiei acestui excipient şi oferă în plus posibilitatea separării cantitative a unor fracţiuni de lanolină, care posedă proprietăţi fizico-chimice deosebite. Din acest punct de vedere, ar fi interesante o serie de studii de galenică. Acestea ar prezenta avantaje faţă de lanolina totală şi ar putea fi utilizate ca atare, fie sub forma unor derivate.

M. Cornescu

Metoda spectrofotometrică pentru determinarea fierului din acidul ascorbic

Rodica Cătuneanu, Institutul politehnic, Catedra de chimie analitică, București,

D. Dragomir, Inspectoratul General de Stat

REZUMAT *Conținutul de fier din acidul ascorbic a fost determinat prin separarea acestui element cu ajutorul schimbului ionic și stabilirea spectrofotometrică a concentrației fierului din complexul Fe $(SCN)_3$.*

Acidul ascorbic, utilizat ca substanță activă la fabricarea vitaminei C — soluții injectabile și tablete — este un puternic reducător, sensibil la o gamă largă de agenți chimici și fizici. Dintre factorii care determină instabilitatea acidului ascorbic, facilitînd descompunerea sa, se menționează metalele grele — cuprul, fierul, argintul etc.

Tehnologia acidului ascorbic este foarte delicată necesitînd o conducere atentă a procesului și un control riguros al materiilor prime și al proceselor intermediare.

Din această cauză condițiile cele mai importante care trebuie urmărite (1) sînt : calitatea materiilor prime și intermediare, respectarea strictă a regimului tehnologic și calitatea aparaturii.

Descompunerea acidului ascorbic sub acțiunea fierului cu modificarea structurii și a culorii cristalelor — de la alb la brun — a impus în prevederile de calitate ale Farmacopeei Române, condiția absenței acestuia. În această situație determinantă pentru puritatea produsului finit este utilizarea unor materii prime care să nu conțină metale grele și în special fier.

Analizînd sub acest aspect materiile prime utilizate în anul 1972—1973 la fabricarea unor loturi de acid ascorbic a rezultat prezența ionului Fe^{3+} în concentrații relativ ridicate, în acizii sulfuric și clorhidric. Datele obținute pe probe medii sînt înscrise în tabelul I :

Tabelul I

Materia primă	Fe^{3+} (g/cm^3)	Fe^{3+} (pp m)
HCl	48.10^{-6}	40,0
H_2SO_4	76.10^{-6}	41,3

Determinările efectuate asupra unor loturi de acid ascorbic au pus în evidență prezența fierului, datorită în cea mai mare parte aportului materiilor prime. Datele rezultate sînt cuprinse în tabelul II.

Literatura indică (2, 3, 4, 5) o serie de metode de determinare a urmelor de Fe^{3+}, metode ce nu puteau fi aplicate la acidul ascorbic, din cauza caracterului reducător al acestuia.

Tabelul II

Acid ascorbic (Lot nr.)	Fe^{3+} (pp m)
530—7/I	83
602— 7/III	50
314— 7/II E	14
370— 8/I	10
31—10/I	75
121—13/I	31
173—10/II	50
242— 9/I	24
10— 2/II	35
242— 1/I	41

Exactitatea unei metode de analiză depinde în mare parte de probele preliminare (6) : aducere în soluție, concentrarea elementului testat într-o anumită limită ușor de determinat etc.

În cazul dozării urmelor de Fe^{3+} din acidul ascorbic, problema comportă două aspecte și anume : concentrarea elementului de determinat și eliminarea efectului reducător al acidului.

Pentru eliminarea acestor efecte s-a utilizat schimbul ionic între o fază solidă — rășină schimbătoare de ioni de tip cationit — și faza lichidă — soluție de acid ascorbic. Schimbul ionic are loc între cationitul în forma R.Na și ionii metalici conținuți în soluție :

$$3R - Na + Fe^{3+} \rightarrow R_3Fe + 3Na^+ \quad (1)$$

Eluția cationilor se face cu reactivi specifici (7) pentru fiecare cation, ținînd cont ca aceștia să aibă puritate foarte mare.

În cazul eluării ionilor Fe^{3+} nu se poate utiliza acidul clorhidric sau azotic p.a. deoarece aceștia au un conținut de ioni Fe^{3+} de cca $5{,}10^{-3}\%$, ceea ce face imposibilă determinarea precisă a metalului. În cazul de față, eluarea ionului Fe^{3+} se poate face cu o soluție 10% NaCl p.a. complet lipsită de ioni Fe^{3+}.

Determinarea cantitativă a conținutului de fier se face spectrofotometric, cu ajutorul unui spectrofotometru de tip Spekol sau VSU-2.

MATERIAL ȘI METODE

Se cîntăresc la balanța analitică cca 6 g acid ascorbic, se dizolvă în cca 50 cc apă bidistilată și se trec printr-o coloană cu schimbători de ioni tip cationit, cu o viteză de 1 cc soluție pe minut. Se spală cationitul cu cca 50 cc apă bidistilată și apoi se eluează ionii Fe^{3+} cu o soluție 10% NaCl (p.a.). Reacțiile care au loc pe coloană sînt următoarele :

$$3R - Na + Fe^{3+} \rightarrow 3R_3 - Fe + 3Na^+ \quad (2)$$

$$R_3Fe + 3NaCl \rightarrow 3R - Na + FeCl_3 \quad (3)$$

Soluția eluată se duce la balon cotat de 100 cc și apoi se ia cotă parte pentru extracția fierului sub forma complexului Fe $(SCN)_3$. Pentru

ca reacţia să fie totală se adaugă 1—2 picături acid azotic conc. şi 1—2 g NH_4SCN — Cantitatea de ioni Fe^{3+} fiind prea mică, este necesară extracţia complexului cu ajutorul alcoolului butilic.

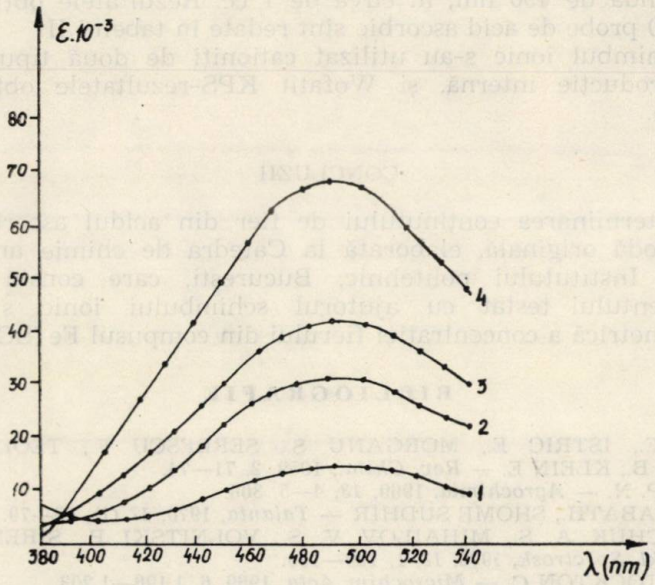


Fig. 1

Se repetă operaţia de extracţie cu alcool butilic, pînă ce stratul de alcool nu mai este colorat şi se duce la balon cotat de 50 cc. *Complexul* Fe $(SCN)_3$ extras în alcool butilic se supune verificării spectrofotometrice, notîndu-se extincţia.

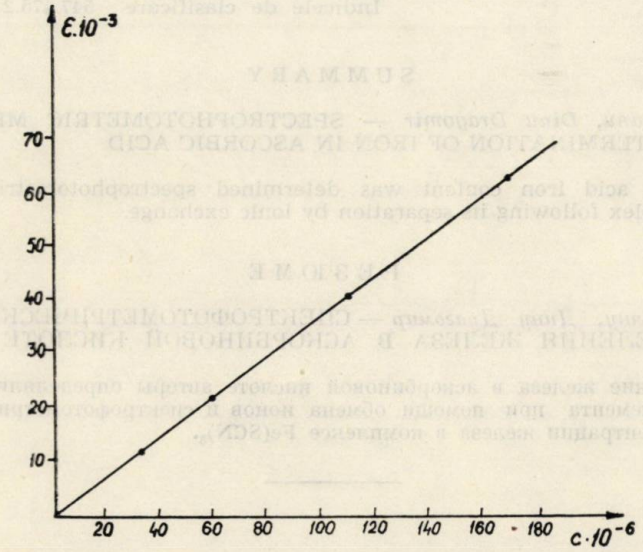


Fig. 2

Pentru a determina lungimea de undă la care absorbţia este maximă, s-a ridicat curba absorbţiei în funcţie de lungimea de undă, pentru 3 concentraţii standard (fig. 1). Din diagramă se constată că absorbţia este maximă pentru lungimea de undă de 490 nm.

Concentrația fierului se determină din curba etalon extincție, funcție de concentrație (fig. 2).

În consecință, determinarea spectrofotometrică s-a efectuat la lungimea de undă de 490 nm, în cuva de 1 cc. Rezultatele obținute pe un număr de 10 probe de acid ascorbic sînt redate în tabelul II.

La schimbul ionic s-au utilizat cationiți de două tipuri : Daction CS-6 P, producție internă, și Wofatit KPS-rezultatele obținute fiind comparabile.

CONCLUZII

La determinarea conținutului de fier din acidul ascorbic s-a utilizat o metodă originală, elaborată la Catedra de chimie anorganică și analitică a Institutului politehnic, București, care constă din separarea elementului testat cu ajutorul schimbului ionic și stabilirea spectrofotometrică a concentrației fierului din compusul $Fe(SCN)_3$.

BIBLIOGRAFIE

1. CUIBAN F., ISTRIC E., MORGANU S., SERBESCU F., TEODORESCU S., BENEȘ B., KLEIN E. — *Rev. Chim.*, 1959, 2, 71—74.
2. TAKKOR P. N. — *Agrochimia*, 1969, *13*, 4—5, 308.
3. DAS BISWABATH., SHOME SUDHIR — *Talanta*, 1970, *17* (1), 75—79.
4. DEM'YANCHUK A. S., MIHAILOV V. S., VOLNITSKI P., SIRENCO I. I. — *Zh. Prikl. Spectrosk*, 1970, *12*, 1, 129—130.
5. FREI R., STOCKTON C. — *Microchim Acta*, 1969, 6, 1 196—1 203.
6. ZIEF M., SPEIGHTS R. — Ultrapurity — Methodes and tehniques — Ed. Marcel Dekker Inc., New-York, 1972.
7. SABĂU CARMEN — Schimbul ionic, Ed. Academiei R.S.R., București, 1970.

Articol intrat în redacție la : 2.V.1974.

Indicele de clasificare : 547.475.2:545.822:546.72

SUMMARY

Rodica Cătuneanu, Dinu Dragomir — SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF IRON IN ASCORBIC ACID

Ascorbic acid iron content was determined spectrophotometrically in the $Fe(SCN)_3$ complex following its separation by ionic exchange.

РЕЗЮМЕ

Родика Кэтунянy, Дину Драгомир — СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА В АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЕ

Содержание железа в аскорбиновой кислоте авторы определяли путем отделения этого элемента при помощи обмена ионов и спектрофотометрического установления концентрации железа в комплексе $Fe(SCN)_3$.

Contribuții la obținerea carbonatului de sodiu reactiv și farmaceutic

D. Turtoi, Em. Pătrașcu

REZUMAT *În lucrare sînt prezentate rezultatele studiului efectuat pentru identificarea și prevenirea formării materiilor insolubile în carbonatul de sodiu de calitate reactiv și farmaceutic. S-a stabilit că principalul component al acestora este sesquicarbonatul de sodiu $Na_2CO_3 \cdot NaHCO_3 \cdot 2H_2O$ și s-a propus o metodă de prevenire a formării acestuia prin adăugare de hidroxid de sodiu în soluțiile tehnologice.*

Carbonatul de sodiu de calitate reactiv și farmaceutic face parte din categoria chimicalelor fine, cu utilizări largi în diverse domenii și ca materie primă la obținerea altor reactivi și chimicale fine. În comparație cu majoritatea reactivilor din fabricația curentă, volumul producției diferitelor sortimente de carbonat de sodiu este suficient de ridicat pentru a atrage atenția cercetării cu scopul de a contribui la îmbunătățirea și perfecționarea procesului tehnologic de fabricație și de a asigura produsului, în mod constant, calitatea corespunzătoare. În mod obișnuit, toate sortimentele de carbonat de sodiu, calitatea reactiv sau farmaceutic, se obțin prin purificarea produsului tehnic (1).

Lucrarea de față prezintă rezultatele studiului de laborator și pe instalația industrială în scopul perfecționării tehnologiei de fabricație, pentru realizarea sortimentelor de carbonat de sodiu al căror conținut de materii insolubile să se încadreze în normă. În mod obișnuit, la dizolvarea în apă distilată a carbonatului de sodiu, calitatea reactiv sau farmaceutic, ar trebui să se obțină soluții perfect limpezi. În realitate, totdeauna la dizolvare rămîne o cantitate de substanță insolubilă, care crește cu concentrația soluției.

Dozarea materiilor insolubile se face prin compararea cu o probă etalon a turbidității soluției obținute prin dizolvarea unei cantități fixe de carbonat de sodiu într-o cantitate de apă distilată, fiartă și apoi răcită. Materiile insolubile se prezintă sub forma unui precipitat fin, care prin agitare conferă o anumită turbiditate soluției.

Conținutul de substanțe insolubile din carbonatul de sodiu reactiv și farmaceutic este limitat de normele de fabricație. În tabelul I sînt prezentate aceste limite pentru diferite sortimente de *carbonat de sodiu (2).*

Obținerea sortimentelor de carbonat de sodiu de calitate reactiv și farmaceutic, care să se încadreze în mod constant în limitele de insolubile, constituie o dificultate tehnologică. În literatură lipsesc date asupra compoziției și mecanismului de formare a materiilor insolubile. În practică, necunoscîndu-se modul de formare a materiilor insolubile, se

conduce procesul tehnologic fără a avea un sistem de control, iar șarjele obținute se analizează și, în funcție de rezultatele analizei, produsul se încadrează într-un sortiment sau altul, conform limitelor prevăzute de norme. Din practica industrială s-au desprins următoarele observații privind substanțele insolubile :

Tabelul I

Limitele de materii insolubile pentru diferite sortimente de carbonat de sodiu, reactiv și farmaceutic

Nr. crt.	Sortiment:	Materii insolubile, maximum %:
1	Decahidrat C.P.	0,002
2	Decahidrat P.A.	0,005
3	Decahidrat P.	—
4	Decahidrat farmaceutic	lipsă
5	Anhidru C.P.	0,005
6	Anhidru P.A.	0,01
7	Anhidru P.	—

— pornindu-se de la aceeași materie primă — carbonatul de sodiu tehnic calcinat — în condițiile desfășurării unor procese tehnologice identice, în aceeași aparatură și la aceiași parametri tehnologici, se obțin șarje cu conținut foarte diferit de materii insolubile ;

— presupunînd apariția materiilor insolubile ca efect al coroziunii aparaturii, schimbarea utilajelor tehnologice cu altele, construite din materiale diferite, nu a dat rezultate concludente ;

— la fabricarea carbonatului de sodiu anhidru, avînd ca intermediar carbonatul de sodiu decahidrat, contrar așteptărilor, materiile insolubile nu se concentrează prin eliminarea apei de cristalizare, ci scad în unele șarje cu mult sub limitele prevăzute de norme ;

— s-a încercat cu unele șarje de carbonat de sodiu decahidrat, cu conținut depășit de materii insolubile, să se dizolve în apă distilată, insolubilele să se filtreze și apoi soluția limpede obținută s-a concentrat, supunîndu-se din nou cristalizării. În produsul finit, au apărut din nou substanțe insolubile.

Analiza globală a acestor observații conduce la ipoteza că, în compoziția materiilor insolubile din carbonatul de sodiu există o substanță care preexistă în materia primă — soda calcinată — sau se formează pe parcursul procesului tehnologic. Aceasta este solubilă la cald în soluția de carbonat de sodiu și se depune odată cu soda cristalizată.

Pe baza analizei datelor de literatură (3) și a observațiilor din practica industrială, s-a presupus că materiile insolubile sînt constituie în principal din sesqvicarbonat de sodiu — $Na_2CO_3.NaHCO_3.2H_2O$. În tabelul II sînt prezentate compozițiile fazei solide și lichide în sistemul ternar $NaHCO_3$ — Na_2CO_3 — H_2O.

Se observă că toate componentele fazei solide prezintă solubilitate mai mare, concomitent cu ridicarea temperaturii. Din această cauză, sesqvicarbonatul de sodiu fiind dizolvat în soluția de carbonat de sodiu caldă, trece în filtrat și apoi la cristalizare se depune odată cu faza solidă.

Sesqvicarbonatul de sodiu, se formează la răcirea soluțiilor care conțin amestecuri de carbonat și bicarbonat de sodiu. Bicarbonatul de

sodiu poate apărea în procesul tehnologic de purificare a sodei calcinate, din trei surse :

a. calcinarea defectuoasă a sodei în procesul de fabricaţie conduce în mod curent la obţinerea unor sortimente cu 1—3% bicarbonat de sodiu, iar uneori depăşeşte 5%. Soda insuficient calcinată are un conţi-

Tabelul 11

Compoziţia fazei lichide şi solide în sistemul ternar $Na_2CO_3 - NaHCO_3 - H_2O$

Temperatura °C	Faza lichidă		Faza solidă
	Compoziţie, %		Compoziţia fazei solide
	$NaHCO_3$	Na_2CO_3	
0	6,45	0,0	$NaHCO_3$
	4,80	5,0	$NaHCO_3$
15	8,15	0,0	$NaHCO_3$
	4,15	13,5	$NaHCO_3 + Na_2CO_3 . 10\ H_2O$
20	8,7	0,0	$NaHCO_3$
	6,7	5,0	$NaHCO_3$
25	9,5	0,0	$NaHCO_3$
	7,15	5,0	$NaHCO_3$
	4,20	17,8	$NaHCO_3 + NaHCO_3 . Na_2CO_3 . 2\ H_2O$
50	12,7	0,0	$NaHCO_3$
	6,0	5,0	$NaHCO_3$
	4,3	20,0	$NaHCO_3 . Na_2CO_3 . 2H_2O + NaHCO_3$
75	16,1	0,0	$NaHCO_3$
	13,3	5,0	$NaHCO_3$
	9,03	17,0	$NaHCO_3 . Na_2CO_3 . 2H_2O + NaHCO_3$

nut mult mai mic de apă în comparaţie cu excesul stoechiometric de bioxid de carbon. La calcinare apa şi amoniacul se elimină mai uşor în comparaţie cu descompunerea ultimelor fracţiuni de bicarbonat de sodiu ;

b. carbonatarea soluţiilor de sodă pe parcursul purificării, cînd se depozitează în vase deschise sau se transvazează şi poate absorbi bioxid de carbon atmosferic ;

c. carbonatarea sodei calcinate în timpul depozitării şi al transportului, care poate fi mai slabă sau mai avansată în funcţie de condiţiile şi durata de depozitare. Soda calcinată absoarbe apa şi bioxidul de carbon din aer, procesul avînd o viteză mai mare la început pentru apă, şi o viteză mai mică pentru bioxid de carbon (3). În figura 1 este prezentată variaţia în timp a compoziţiei sodei calcinate în timpul depozitării. În perioada iniţială se absoarbe cu precădere apa care formează un monohidrat — $Na_2CO_3H_2O$. Acesta trece în sesqvicarbonat pe măsura absorbţiei apei şi bioxidului de carbon. Conţinutul de sodă monohidrat atinge o valoare maximă. În continuare, scăzînd conţinutul de sodă calcinată, viteza de formare a monohidratului scade. Simultan are loc scăderea cantităţii totale de monohidrat care se consumă pentru formarea sesqvicarbonatului.

Din figura 2 se poate observa variaţia vitezelor de absorbţie a apei şi a bioxidului de carbon în timpul depozitării (3). Deşi viteza de ab-

sorbţie a apei este tot timpul mai mare decît a bioxidului de carbon, iar curba reprezentînd diferenţa dintre cantitatea de apă şi bioxidul de carbon are o creştere continuă, consumîndu-se mai multă apă decît bioxid de carbon pentru formarea sesqvicarbonatului, cantitatea de carbonat de sodiu monohidrat scade după cîţiva ani. La trecerea totală a sodei cal-

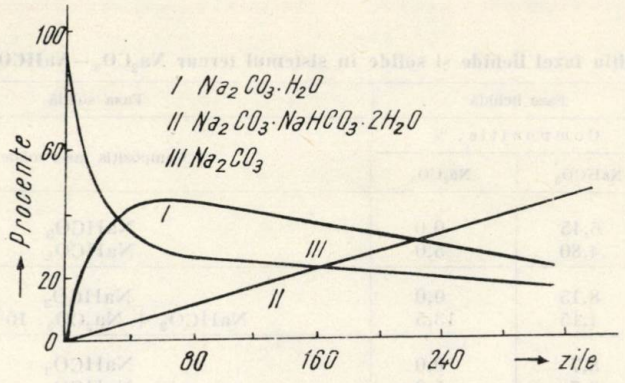


Fig. 1. — Variaţia compoziţiei sodei calcinate în timpul depozitării.

cinate în sesqvicarbonat, diferenţa dintre cantităţile de apă şi bioxid de carbon absorbit atinge 10, 17% corespunzător calculelor stoechiometrice.

Considerînd că formarea sesqvicarbonatului de sodiu în soluţiile tehnologice de carbonat de sodiu şi înglobarea acestuia în produsul finit permite explicarea observaţiilor practice şi este în deplină con-

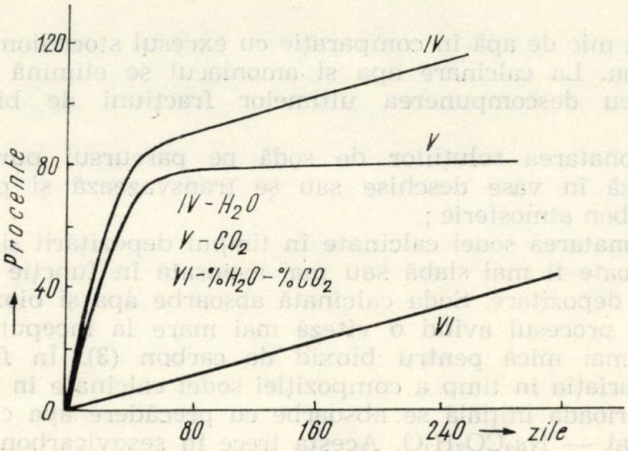


Fig. 2. — Absorbţia CO_2 şi H_2O de către soda calcinată, în timpul depozitării.

cordanţă cu datele din literatură, în partea experimentală s-a pus în evidenţă prezenţa — în materiile insolubile — a sesqvicarbonatului de sodiu şi a altor substanţe, şi s-au studiat posibilităţile de îndepărtare şi prevenire a formării lui pe parcursul procesului tehnologic.

Pentru a înlătura prezența sesqvicarbonatului de sodiu din produsul finit, s-a considerat că prezența unei cantități determinate de hidroxid de sodiu în soluțiile tehnologice de carbonat de sodiu va conduce la transformarea bicarbonatului în carbonat de sodiu.

COMPOZIȚIA SUBSTANȚELOR INSOLUBILE

Substanțele insolubile luate în studiu s-au obținut prin dizolvarea a 50 kg carbonat de sodiu decahidrat, calitatea p.a., în 50 de litri de apă distilată. Substanțele insolubile s-au separat prin decantare, pentru micșorarea volumului soluției, s-au filtrat și apoi s-au spălat pe filtru cu o cantitate minimă de apă distilată. În continuare, acestea au fost supuse unor teste cantitative și semicantitative pentru a se stabili orientativ compoziția.

Materiile insolubile în apă și soluțiile de carbonat de sodiu sînt foarte ușor solubile în acizii clorhidric și azotic, cu efervescență puternică. Gazul degajat s-a identificat ca fiind bioxidul de carbon. Soluțiile obținute sînt perfect limpezi și nu conțin acid silicic.

În continuare, s-a decelat prezența ionilor de calciu și magneziu în soluțiile obținute mai sus. Dozarea lor complexometrică a arătat că materiile insolubile studiate au un conținut de 0,74% Mg^{2+} și 3,05% Ca^{2+}. În soluție s-au identificat mari cantități de ioni de sodiu. Soluția azotică conținea urme de ioni clor.

Aceste rezultate confirmă prezența sesqvicarbonatului de sodiu în soluțiile tehnologice de sodă. Prezența calciului și a magneziului se poate explica prin introducerea lor în proces odată cu soda calcinată sau apa de dizolvare și reținerea lor la cristalizare în faza solidă sub forma unor săruri duble de tipul $Na_2CO_3.MeCO_3.2H_2O$, în care Me = Ca, Mg (4).

ÎNCERCĂRI EXPERIMENTALE DE PREVENIRE A FORMĂRII SESQVICARBONATULUI DE SODIU ÎN PRODUSUL FINIT

S-a încercat în condiții de laborator reproducerea procesului tehnologic de purificare a soluțiilor de sodă calcinată și apoi s-a studiat posibilitatea reducerii conținutului de bicarbonat de sodiu și împiedicarea formării lui pe parcursul procesului tehnologic.

S-a adoptat următoarea metodică generală de lucru cu modificări de la caz la caz : cîte 200 g sodă calcinată tehnică, calitatea I-a, s-a dizolvat prin agitare în 400 ml apă. Dizolvarea s-a realizat fără încălzire exterioară, temperatura soluției crescînd exclusiv pe seama căldurii de hidratare.

S-au efectuat o serie de încercări de purificare a carbonatului de sodiu tehnic prin cristalizare, urmărindu-se în mod special conținutul de materii insolubile. Rezultatele sînt prezentate în tabelul III și din analiza acestora se constată că, în condițiile adoptate în laborator, toate probele au prezentat un conținut depășit de materii insolubile.

Nu se observă vreo relație între cantitatea de insolubile și randamentul în sodă cristalizată obținut.

În continuare s-a studiat distribuția materiilor insolubile în cazul unei cristalizări fracționate. S-a lucrat în aceleași condiții ca mai sus, cu deosebirea că s-au cules fracțiuni de cristale după concentrări succesive.

Din tabelul IV reiese că prin cristalizare fracţionată există o distribuţie mai accentuată a materiilor insolubile în primele fracţiuni de cristale, ceea ce s-ar putea folosi — în condiţii industriale — pentru obţinerea unor cantităţi de produs finit cu conţinut redus de materii

Tabelul III

Purificarea soluţiilor de carbonat de sodiu tehnic şi obţinerea carbonatului de sodiu decahidrat

Nr.	$Na_2CO_3 . 10H_2O$ separată prin cristalizare (g)	Conţinutul de insolubile (% × 10^{-2})	Gradul de separare a produsului cristalizat din soluţie (%)
1	511	2,1	90,3
2	495	1,8	87,4
3	515	1,6	90,9
4	482	2,5	85,1

volatile. Aceasta nu rezolvă problema, deoarece se obţin şi fracţiuni cu concentraţii mai mari de materii insolubile.

În continuare s-a reluat procesul tehnologic de cristalizare, luîndu-se măsuri de a se preveni contactarea soluţiei şi a sodei cristalizate obţinute cu bioxidul de carbon din aer. La un randament de 90,5%

Tabelul IV

Cristalizarea fracţionată a carbonatului de sodiu decahidrat

Nr. crt.	Sodă cristalizată separată (g)	Conţinutul de insolubile (% × 10^{-2})	Randamentul de cristalizare (%)
1	68,5	3,4	11,9
2	72,3	3,2	12,6
3	82,7	2,5	14,6
4	64,0	1,7	11,1
5	96,6	1,4	17,0
6	70,4	1,4	12,2
7	65,3	1,2	11,5

sodă cristalizată obţinută, conţinutul în materii insolubile a fost de 0,014%, valoare inferioară conţinutului de materii insolubile prezentate în tabelul III, cînd a existat posibilitatea formării de materii insolubile şi pe parcursul procesului tehnologic.

Pentru a elimina prezenţa bicarbonatului de sodiu, în seria de încercări efectuate în continuare, s-au adăugat diferite cantităţi de hidroxid de sodiu soluţiei brute de sodă şi s-a lucrat fără contactarea produselor cu aerul atmosferic.

Tabelul V

Cristalizarea carbonatului de sodiu decahidrat în prezenţa hidroxidului de sodiu

Nr. crt.	Cantitatea de NaOH faţă de soda calcinată		Sodă cristalizată separată (g)	Conţinutul de insolubile (% × 10^{-2})	Randamentul de cristalizare (%)
	(%)	(g)			
1	2,0	1,0	510	0,6	90,1
2	5,0	2,5	497	0,5	87,8
3	8,0	4,0	505	0,4	89,2
4	10,0	5,0	514	0,2	90,3
5	15,0	7,5	488	0,2	86,3

Din datele prezentate în tabelul V se observă că eliminarea bicarbonatului de sodiu din soluție și prevenirea bicarbonatării sînt factorii favorabili pentru a împiedica formarea materiilor insolubile, conținutul acestora scăzînd cu un ordin de mărime.

Introducerea unui consum de hidroxid de sodiu în procesul tehnologic aduce creșterea prețului de cost. Pentru a preveni acest lucru s-a încercat introducerea indirectă a sodei caustice ; un adaos de oxid de calciu tehnic la soluția inițială de sodă conduce la caustificare conform reacției :

$$Na_2CO_3 + Ca(OH)_2 \rightleftharpoons 2NaOH + CaCO_3$$

În prezența unui exces foarte mare de carbonat de sodiu, această reacție este practic totală.

Tabelul VI

Cristalizarea sodei din soluții apoase, prelucrate cu var tehnic

Nr. crt.	Cantitatea de var tehnic		Sodă cristalizată separată (g)	Conținutul de insolubile (% × 10^{-3})	Randamentul de cristalizare (%)
	(g)	(%)			
1	5,0	2,5	521	0,5	92,0
2	8,0	4,0	509	0,4	90,0
3	10,0	5,0	525	0,4	92,9
4	15,0	7,5	497	0,2	87,7

În soluția conținînd 200 g sodă calcinată în 400 ml apă, s-a adăugat o cantitate de var nestins. Soluția caldă s-a amestecat cu 1,0 g cărbune activ CF-1 și s-a filtrat sub vid printr-un filtru Gootsch G-3. Soluția limpede s-a concentrat prin evaporare. Prin răcire la temperatura camerei s-au depus cristale, cărora li s-a determinat conținutul de substanțe insolubile.

După cum reiese din tabelul VI, adăugarea de oxid de calciu tehnic în soluția inițială de sodă are efect similar cu adăugarea de sodă caustică, prevenindu-se formarea materiilor insolubile.

În condiții industriale s-au elaborat trei șarje pornind de la cîte 100 kg sodă calcinată tehnică calitatea I-a. S-au adăugat în soluția inițială cîte 1,5 respectiv 3 și 6 kg sodă caustică. Din cauza faptului că nu s-a reușit să se împiedice contactarea soluției și a produsului finit cu bioxidul de carbon din atmosferă, rezultatele nu sînt concludente, deși conținutul de materii insolubile al sodei cristalizate obținute în cele trei șarje a fost sub media rezultatelor curent obținute.

CONCLUZII

În urma studiului efectuat asupra obținerii carbonatului de sodiu de calitate reactiv și farmaceutic care să se încadreze în normele privind limitele de materii insolubile, se pot trage următoarele concluzii :

1. Componentul principal al materiilor insolubile din carbonatul de sodiu calitatea reactiv și farmaceutic este sesqvicarbonatul de sodiu, $Na_2CO_3.NaHCO_3.2H_2O$.

2. Sesqvicarbonatul de sodiu se formează pe seama bicarbonatului de sodiu preexistent în materia primă (soda calcinată tehnică) și

prin carbonatarea soluţiilor de sodă sau a sodei cristalizate, în prezenţa bioxidului de carbon din atmosferă.

3. Bicarbonatul de sodiu preexistent în materia primă se poate transforma în carbonat de sodiu, prin adăugare de hidroxid de sodiu în soluţia de sodă.

4. Un exces de hidroxid de sodiu adăugat soluţiei de sodă va preveni formarea bicarbonatului de sodiu pe parcursul procesului tehnologic. Totuşi, se recomandă ca fabricarea carbonatului de sodiu de calitate reactiv şi farmaceutic să se facă în spaţii cu un conţinut pe cît posibil mai redus de bioxid de carbon.

5. Hidroxidul de sodiu introdus în proces se poate înlocui cu cantităţi echivalente de var nestins tehnic, care în urma reacţiei de caustificare va produce hidroxid de sodiu cu acelaşi efect tehnologic, însă cu cheltuieli mai reduse.

BIBLIOGRAFIE

1. LAKATOS L., TURTOI D. — *Farmacia, 1973, XXI,* 3, 179—187.

2. * * * — State factory of reagents and fine chemicals ; Reactivul, Bucureşti, 1965.

3. TE PAN GO — Proizvodstvo sodî, Goshimizdat, Moskova, 1949.

4. * * * — Spravocinik himika, T. IV, Ed. Goskhimizdat, Moscova, 1964.

Articol intrat în redacţie la : 17.IV.1974.

Indicele de clasificare : 615.732.13

SUMMARY

D. Turtoi, Em. Pătraşcu — CONTRIBUTION TO THE PREPARATION OF REACTANT AND PHARMACEUTICAL SODIUM CARBONATE

The present paper reports on the results obtained in a study carried out for the identification of insoluble material and the prevention of its formation in reactant and pharmaceutical sodium carbonate. The principle insoluble component is sodium sesquicarbonate ($Na_2CO_3 \cdot NaHCO_3 \cdot 2H_2O$) and a method is proposed for preventing its formation by adding sodium hydroxide in the technological solutions.

РЕЗЮМЕ

Д. Туртой, Э. Пэтрашку — К ВОПРОСУ ПОЛУЧЕНИЯ КАРБОНАТА НАТРИЯ ОБЛАДАЮЩЕГО СВОЙСТВАМИ РЕАКЦИИ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ

В статье излагаются результаты исследований, произведенных для идентификации и предупреждения образования нерастворимых материалов в отношении карбоната натрия, обладающего свойствами реактива и фармацевтическими особенностями.

Было установлено, что главным их компонентом является полуторакарбонат натрия: $Na_2CO_3 \cdot NaHCO_3 \cdot 2H_2O$ и был предложен мето дего образования путем добавления водной окиси натрия в технологических растворах.

Metoda fluorescenței de raze X în analiza cantitativă a unor substanțe medicamentoase din forme farmaceutice

I. Determinarea fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat de producție internă *

St. Moisescu, I. Vanghelie, D. Vasile

Laboratorul de chimie fizică și coloidală, Facultatea de farmacie, București

REZUMAT *Se prezintă o aplicație a metodei simplei diluții a lui Tertian la determinarea cantitativă, prin fluorescență de raze X, a fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat 2% de producție internă.*

Fluorescență de raze X *Fier zaharat*
Analiză cantitativă *Soluții injectabile*

Determinarea conținutului în fier din soluția injectabilă de fier zaharat 2% se face în mod curent sub formă de complex colorat cu acidul sulfosalicilic, după ce în prealabil au fost efectuate o serie de operații: de diluție, mineralizare cu acid sulfuric pe baia de apă, complexare.

Cerințele actuale de introducere a tehnicilor moderne, rapide și precise, ne-au determinat să cercetăm posibilitatea folosirii metodei fluorescenței de raze X pentru analiza cantitativă a unor medicamente în vederea introducerii ei în laboratoarele uzinale și de control.

Schema de principiu a obținerii radiațiilor X de fluorescență și geometria lor de măsurare sînt arătate în figura 1.

Colimatorul primar, colimatorul secundar și detectorul sînt centrate pe axa de rotație a cristalului analizor. Cristalul analizor și brațul mobil al goniometrului pe care sînt fixate colimatorul secundar și detectorul se pot roti uniform, cu ajutorul unui motor cu vitezele de $\theta°$/minut, respectiv $2\,\theta°$/minut.

După cum se știe, sub acțiunea radiațiilor X emise de anoda tubului de raze X, atomii elementelor din probă emit radiații X de fluorescență (secundare sau caracteristice), care sînt selectate după lungimea de undă cu ajutorul cristalului analizor.

Atunci cînd unghiul $\theta°$ sub care cad radiațiile X de fluorescență pe cristalul analizor satisface relația lui Bragg:

$$2\,d \sin \theta = n\lambda$$

unde
d = distanța dintre planele reticulare ale cristalului analizor,
λ = lungimea de undă a radiației X de fluorescență și
$n = 1, 2, 3 \ldots$

* Lucrare comunicată la Sesiunea științifică a cadrelor didactice din Institutul de Medicină și Farmacie București, dedicată celei de a XXX-a aniversări a eliberării patriei și a celui de al XI-lea Congres al P.C.R., 17—18.V.1974.

radiațiile X de fluorescență reflectate pe planele reticulare ale cristalului analizor, interferă formînd un maximum de interferență, iar detectorul înregistrează un maximum de intensitate

Prin rotirea cuplată a cristalului analizor și detectorului se obțin spectrele de fluorescență de raze X ale elementelor din probă, care pot fi înregistrate pe hîrtie cu ajutorul unui inscriptor.

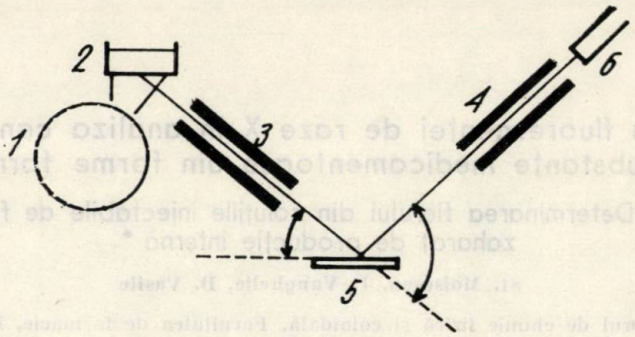


Fig. 1. — Schema de principiu a obținerii radiațiilor X de fluorescență și geometria lor de măsurare.

Deoarece, pe de o parte, spectrul de fluorescență de raze X este strict caracteristic pentru fiecare element, indiferent de combinația în care se află (vezi în figura 2 spectrele de fluorescență ale fierului din sulfatul feros și zaharat de fier), iar pe de altă parte, intensitatea radia-

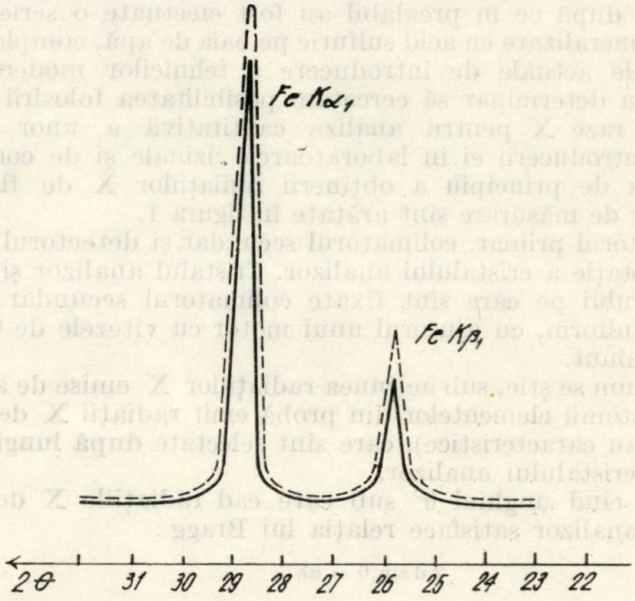


Fig. 2 — Spectrele de fluorescență ale fierului din sulfatul feros și zaharatul de fier.

ției X de fluorescență a elementului depinde de concentrația elementului din probă, este posibilă atît analiza elementară calitativă, cît și cantitativă a substanțelor prin metoda fluorescenței de raze X.

Intensitatea radiației X de fluorescență (fig. 3), I_A, a elementului A, este egală cu diferența dintre intensitatea maximului I_p, corespunzător lungimii de undă caracteristice a elementului, și intensitatea I_F a fondului (1):

$$I_A = I_p - I_F$$

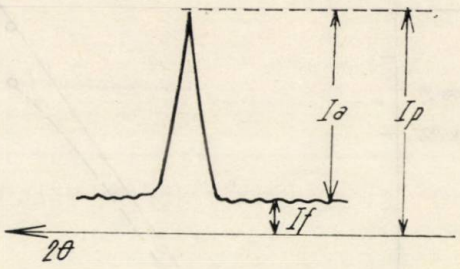


Fig. 3. — Intensitatea radiației X de fluorescență I_A ca diferență dintre intensitatea maximului I_P și intensitatea fondului I_F.

Aparatura. Instalația de fluorescență de raze X folosită în prezenta cercetare este compusă dintr-un difractometru TUR M 61, un goniometru orizontal H Z G 1, un amplificator liniar de impulsuri VA-M-52.1, un inscriptor liniar de impulsuri VAG—14.1 și un numărător de impulsuri VA—M—14, de producție R.D.G.

PRINCIPIUL METODEI DE DOZARE ȘI TEHNICA DE LUCRU

Datorită absorbției de către elementele din matricea probei, intensitatea radiației de fluorescență de raze X, I_A, este o funcție neliniară de concentrație (fig. 4).

Pentru mărirea preciziei evaluării cantitative a elementului care interesează, Tertian a propus relativ recent o metodă matematică de corecție a acestei absorbții (2) (3) (4).

Potrivit acestei metode, intensitatea radiației X de fluorescență corectă, I_A^x a elementului A din probă.

$$I_A^x = \frac{I_A \cdot I'_A}{I_A - I'_A}$$

unde I_A și I'_A reprezintă intensitățile radiațiilor X de fluorescență din probă, respectiv din proba diluată 1 : 1, conduce la o diagramă liniară a lui I_A^x în funcție de concentrație. Dreapta corespunzătoare trece prin origine (fig. 4).

Măsurînd intensitățile radiațiilor X de fluorescență ale elementului A din soluția probă inițială (I_A), din soluția probă diluată în raportul 1 : 1 (I'_A), dintr-o soluție etalon (I_E) și din soluția etalon diluată în raportul 1 : 1 (I'_E), concentrația x a elementului A din soluția probă va fi dată de relația:

$$x = C \cdot \frac{(I_A \cdot I'_A)/(I_A - I'_A)}{(I_E \cdot I'_E)/(I_E - I'_E)}$$

unde C este concentrația elementului din soluția etalon.

Condițiile experimentale sînt prezentate sumar în tabelul I.

Pentru aprecierea rezultatelor determinărilor cantitative ale fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat de producție internă prin metoda

fluorescenţei de raze X, au fost efectuate determinări cantitative paralele pe cale spectrofotometrică, prin măsurarea extincţiilor de la 420 n.m., unde complexul fierului cu acidul sulfo-salicilic prezintă un maximum de absorbţie. Tehnica determinării cantitative prin metoda spectrofotometrică descrisă mai jos a rezultat din adaptarea unei metode elaborate de A. Bronescu la scopurile noastre.

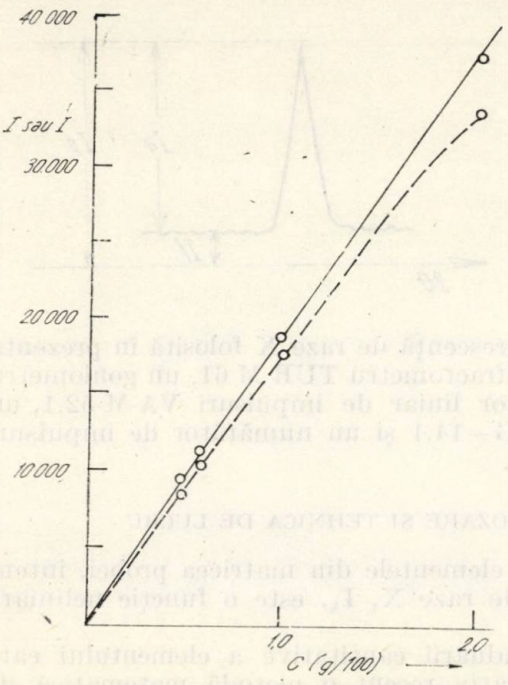


Fig. 4. — Dependenţa liniară a intensităţii radiaţiei X de fluorescenţă corectată I_A, de concentraţia elementului din probă.

Astfel, cîte 2,5 ml din soluţiile folosite la analiza prin fluorescenţă au fost aduşi în baloane cotate de cîte 100 ml şi completate la semn cu apă distilată. Din aceste soluţii s-au luat cîte 5 ml în pahare Berzelius, s-au adăugat cîte 2 ml acid sulfuric concentrat şi s-a încălzit pe baia de apă timp de 20 de minute. După răcire, amestecurile au fost trecute cantitativ în baloane cotate de 100 ml şi completate cu apă la semn.

S-au prelevat apoi cîte 10; 20 sau 40 ml din aceste soluţii (în funcţie de diluţie, pentru a atinge extincţii convenabile) care s-au trecut în alte baloane cotate de 100 ml, s-au adăugat cîte 2 ml acid sulfosalicilic 20% şi cîte 5 ml amoniac 25%, după care s-au adus peste tot la semn cu apă distilată.

Citirile de extincţie s-au făcut la spectrofotometrul VSU—2P Carl-Zeiss-Jena folosind cuve de 1 cm, iar ca martor, o soluţie alcătuită din

Tabelul I

TUB	U (KV)	I (mA)	Cristal analizor	Detector	2θ	
					Linia	Fond
W	40	25	LiF 2d = 4,028	Contor proporţional	57,45	56,00

0,2 ml acid sulfuric concentrat, 2 ml sulfosalicilic de 20%, 5 ml amoniac 25% şi apă la 100 ml.

Conţinutul în grame fier la 100 ml soluţie din probele supuse fotometriei s-a calculat după formula:

$$g\ Fe/100\ ml\ soluţie = E \cdot f$$

unde f = 8 pentru soluţiile din care s-au prelevat 10 ml şi f = 4 sau 2 pentru soluţiile din care s-au prelevat 20, respectiv 40 ml.

Rezultatele obţinute prin această metodă sînt înscrise în tabelul II, iar cele obţinute prin metoda fluorescenţei de raze X, în tabelul III.

Examinarea datelor înscrise în aceste tabele — unde sînt prezentate și rezultatele prelucrării statistice elementare corespunzătoare — atestă posibilitatea folosirii metodei fluorescenței de raze X în analiza de serie, în laboratoarele uzinale sau de control, a soluțiilor injectabile de fier zaharat 2%.

Tabelul II

Determinarea fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat de producție internă, prin metoda spectrofotometrică, sub formă de complex cu acidul sulfosalicilic (λ = 420 nm)

Nr. crt.	Diluția	Concentrația probei analizate (g/100 ml)	Concentrația soluției inițiale (nediluate) (g/100 ml)
1	2x	0,99	1,98
2	2x	0,97	1,94
3	2x	1,00	2,00
4	2x	1,00	2,00
5	4x	0,50	2,00
6	4x	0,46	1,84
7	4x	0,46	1,84
8	4x	0,46	1,84
9	8x	0,26	2,08
10	8x	0,26	2,08

$\bar{x} = 1,96$; $R = (2,08 - 1,84) = 0,24$; $Me = 1,99$
$s^2 = 0,0086$; $s = 0,0926$
$s^2_{\bar{x}} = 0,00086$; $s_{\bar{x}} = 0,031$
$t_{0,05} = 2,262$; $t_{0,05}\ s_{\bar{x}} = 0,07$
$1,89 < \mu < 2,03$

Tabelul III

Determinarea fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat de producție internă, prin metoda fluorescenței de raze X

Nr. crt.	Diluția	Concentrația probei analizate (g/100 ml)	Concentrația soluției inițiale (nediluate) (g/100 ml)
1	2x	1,00	2,00
2	2x	1,04	2,08
3	2x	1,07	2,14
4	2x	0,99	1,98
5	4x	0,53	2,12
6	4x	0,49	1,96
7	4x	0,50	2,00
8	4x	0,53	2,12
9	8x	0,25	2,00
10	8x	0,25	2,00

$\bar{x} = 2,04$; $R = 2,14 - 1,96 = 0,18$; $Me = 2,00$
$s^2 = 0,0045$; $s = 0,067$
$s^2_{\bar{x}} = 0,00045$; $s_{\bar{x}} = 0,02$
$t_{0,005} = 2,262$; $t_{0,05}\ s_{\bar{x}} = 0,045$ g/10 ml
$2 < \mu < 2,08$

Metoda reduce la mai mult de jumătate timpul de efectuare a analizei, fără a fi necesar consumul vreunui reactiv, ceea ce o recomandă atît pentru analiza fierului zaharat din soluții injectabile, cît și a altor preparate similare.

BIBLIOGRAFIE

1. IENKINS R., DE VRIES J. L., — Practical X-ray spectrometry, ed. a II-a, Mac Millan & Co. Ltd., London, 1970.

2. TERTIAN R. — *Spectrochim. Acta*, 1968, 23 B, 305.

3. TERTIAN R. — *Spectrochim. Acta*, 1969, 24 B, 477.

4. TERTIAN R. — Chimie analitique, 1969, *51*, 11, 525.

5. RUMŞINSKII L. Z. — Matematiceskaia obrabotka rezultatov experimenta, Izdatelstvo „Nauka", Moscova, 1971.

Articol intrat în redacţie la 21.VI.1974

Indicele de clasificare : 615.739.13 : 545

SUMMARY

St. Moisescu, I. Vanghelie, D. Vasile — X-RAY FLUORESCENCE IN THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF SOME DRUGS IN PHARMACEUTICAL FORMS. I. THE DETERMINATION OF IRON IN INJECTABLE SACCHARATED IRON SOLUTIONS

Tertian's simple dilution was applied to the quantitative determination by X-ray fluorescence of iron in injectable 2% saccharated iron solutions, a Romanian product.

The qualities of the method were evaluated by parallel spectrophotometric determination of the same samples complexed with sulphosalicylic acid.

The experimental results, processed statistically, showed that X-ray fluorescence can be used for serial analyses, in inplant and control laboratories, both of injectable 2% saccharated iron solutions and of other similar products.

The method reduces by half the time necessary for the analysis and necessitates no reagent.

РЕЗЮМЕ

Шт. Моисеску. И. Вангелие, Д. Василе — МЕТОД ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЛЮРЕСЦЕНЦИИ Х-ЛУЧЕЙ ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ АНАЛИЗЕ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В АПТЕЧНЫХ ФОРМАХ. СООБЩЕНИЕ I. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЕЗА В РАСТВОРАХ САХАРНОГО ЖЕЛЕЗА ДЛЯ ВПРЫСКИВАНИЙ МЕСТНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Описывается применение простого метода раствора Тертиана для количественного определеиия при помощи флюоресценции Х-лучей, содержания железа для впрыскивания 2%-го раствора сахарного железа местной продукции.

Для оценки качества предлагаемого метода излагаются результаты параллельного определения содержания железа в той же пробе, но спектрофотометрическим путем — в форме комплекса содержащего сульфосалициловую кислчту.

При статистической обработке экспериментальные результаты подтверждают возможность исползования флюоресцентности Х-лучей при серийных анализах в заводских или контрольных лабораториях как при проверке 2% растворов для впрыскивания сахарного железа, так и для анализа других аналогических препаратов.

Предлагаемый метод снижает больше чем наполовину период времени, необходимый для производства анализа без необходимости применения других реактивов.

Alexandru Ionescu—Matiu

Dr. profesor emerit, general farmacist-chimist (în rezervă)

Profesiunea de farmacist a îmbrăcat haină de doliu şi cu sufletul cernit s-a despărţit, la 2 aprilie al acestui an, de cel ce fusese veneratul şi iubitul profesor emerit şi general farmacist-chimist (în rezervă), Alexandru Ionescu-Matiu.

Decan de vîrstă — căci la 25 iunie a.c., ar fi împlinit 92 de ani — lasă în urma sa una din cele mai luminoase căi, străbătută cu dăruire şi demnitate, atît în cadrul învăţămîntului universitar farmaceutic, cît şi al farmaciei militare, personalitate de prestigiu, bine cunoscută în ţară şi în străinătate.

Făcînd parte din a doua promoţie de elevi-farmacişti ai Institutului Medico-Militar, intern al Spitalelor Eforiei, obţine diploma de farmacist în 1906, cînd este avansat sublocotenent şi repartizat la Spitalul Militar Bucureşti.

În calitate de bursier face apoi studii de doctorat la Universitatea din Geneva, în laboratorul de chimie fizică condus de prof. Philippe Guy, unde, în 1913 obţine titlul de doctor în ştiinţele fizico-chimice, cu lucrarea „Contribution à l'etude du mecanisme de l'inversion de Walden".

Urmează, în 1913, specializare la ilustrul prof. Bertrand la Institutul „Pasteur", precum şi la spitalul St. Louis şi la Spitalul Militar Val de Grace din Paris.

După primul război mondial, farm, lt. col. dr. Alex Ionescu-Matiu, în calitate de şef al Laboratorului Central de chimie al armatei, ajutat de pricepuţi colaboratori, reorganizează şi dotează o serie de secţii, unde se execută interesante lucrări originale, care au fost publicate în reviste din ţară şi din străinătate.

Larga utilizare a gazelor de luptă pe front, face ca şi ţara noastră să organizeze din timp apărarea contra acestei arme chimice.

Această misiune importantă este încredinţată farm. col. dr. Alexandru Ionescu-Matiu.

Are loc înfiinţarea serviciului gazelor de luptă şi a unui laborator de studii ; ia naştere fabrica de material de protecţie în acest domeniu iar Alex, Ionescu-Matiu este primul profesor de chimie şi toxicologie din armata noastră care predă această specialitate.

Şef al farmaciei Spitalului Militar Central din Bucureşti (1935), numit apoi, în 1937, farmacist şef al armatei şi director al Direcţiei farmaceutice din Ministerul Apărării Naţionale, duce o rodnică activitate ; în 1938 este trecut în rezervă şi înaintat la gradul de general.

Cariera lui Alexandru Ionescu-Matiu împleteşte armonios munca asiduă depusă în cadrul armatei cu cea din învăţămîntul superior farmaceutic.

Prof. dr. Ştefan Minovici — ctitorul învăţămîntului farmaceutic modern — văzînd în dr. Alexandru Ionescu-Matiu un element de o deosebită cultură, putere de muncă şi dăruire, îl recomandă şi acesta este numit, în 1918, conferenţiar de chimie biologică şi toxicologie la Facultatea de farmacie din Bucureşti, precum şi chimist-legist la Institutul medico-legal. Astfel, conf. dr. Alexandru Ionescu-Matiu începe o rodnică activitate şi pe tărîmul universitar, căreia i se dăruieşte din plin.

Pentru deosebitele sale merite este numit, în 1926, profesor de chimie farmaceutică la Facultatea de farmacie din Iaşi, iar în 1934 revine ca profesor la Facultatea de farmacie din Bucureşti, consecinţă a concentrării acestui învăţămînt.

În tot acest timp formează cadre de valoare, care vor deveni cadre didactice de mare perspectivă, sau farmaciști de vază, și conduce nenumărate teze de doctorat.

Singur sau în colaborare publică numeroase și apreciate lucrări, care au văzut lumina tiparului și peste hotare, în domeniul chimico-legal și al chimiei biologice (noi metode pentru dozarea alcaloizilor din medicamente, diferențierea ptomainelor de alcaloizi în toxicologie, defecarea sîngelui pentru dozarea ureei, procedeul simplificat pentru dozarea acidului uric din sînge, chimismul glucozuriilor diabetice, o nouă metodă de cercetare a pigmenților biliari în urină etc).

Merită a fi menționate și cercetările privind apele minerale de la Băile Herculane, regiune atît de importantă și de bine valorificată astăzi.

În domeniul chimiei-farmaceutice, prof. dr. Alexandru Ionescu-Matiu, în afară de nenumărate lucrări a creat trei importante capitole, și anume : zaharimetria fericianică, mercurimetria și volumo-colorimetria, care sînt citate sau descrise în principalele manuale și tratate de specialitate, din țară și străinătate.

Rezultatele cercetărilor sale sînt prezentate la ședințe ale diferitelor societăți științifice și la congrese din țară și de peste hotare.

Pentru neobosita și valoroasa muncă depusă, a fost decorat, în 1963, cu „Ordinul Muncii" clasa I, iar în anul următor Ministerul Învățămîntului i-a decernat titlul științific de „profesor universitar emerit".

Cercurile științifice din țară și străinătate, apreciind rodnica și interesanta activitate de-a lungul anilor a profesorului Alexandru Ionescu-Matiu, l-au onorat conferindu-i „Medalia Institutului Pasteur" din Paris (1963), l-au numit membru de onoare al Societății de farmacie din România, membru de onoare al Academiei de farmacie din Paris, membru al Academiei de farmacie din Madrid, membru al Societății de chimie industrială din Paris.

Toate aceste distincții au onorat nu numai un om, ci și o țară, care a ajuns azi a fi din ce în ce mai mult în atenția și stima tuturor popoarelor dornice ca în pace să se bucure de munca lor și de binefacerile științei.

Colaboratori și elevi ai profesorului Alexandru Ionescu-Matiu au avut cinstea să-l sărbătorească prin viu grai sau scris *) acum 2 ani, cu prilejul împlinirii veneratei vîrste de 90 de ani, exprimînd, cu această ocazie dragostea și recunoștința lor pentru cel ce s-a dăruit cu toate puterile și cu tot sufletul nobilei și frumoasei munci de farmacist.

Profesorul emerit dr. Alexandru Ionescu-Matiu rămîne un imbold totdeauna viu pentru generațiile viitoare !

Prof. *P. Ionescu-Stoian* Prof. *Al. Mavrodin*

---

*) — Lt. colonel rez. farm. chim. Victor Ștefănescu, *Farmacia*, 1973, 6, 321.
— Colonel farm. chim. dr. Constantin Apreotesei, locot. col. farm. chim. retr. dr. Victor Ștefănescu, *Revista sanitară militară*, 1973, nr. 4, 491.

DIN ACTIVITATEA U.S.S M.

FILIALA MUREŞ

La data de 10.II.1975 a avut loc şedinţa ştiinţifică festivă a filialei Mureş, cu următoarea ordine de zi :

Prof. dr. doc. *P. Ionescu Stoian :* „Realizări şi perspective în farmacovigilenţă".

La şedinţa din 20.III.1975 s-au dezbătut următoarele :

Prof. dr. *A. Radu* (I.M.F. Cluj-Napoca) : „Probleme de farmacogenetică".

Asist. univ. *Szöcs Josefa,* asist. univ. *Ajtay K. Maria,* şef lucr. *Balogh Eva* (I.M.F. Tg. Mureş) : „Contribuţii la dozarea fracţionată a Nitrazepamului şi a metaboliţilor săi din materiale biologice".

Conf. *V. Bota,* asist. *univ. I. Mathé* (I.M.F. Tg. Mureş) : „Separarea acitocinei dintr-un preparat farmaceutic retrohipofizar prin metoda gel-filtrării".

Şedinţa din 24.IV.1975 s-a desfăşurat după următorul program :

Farm. *Balogh Eniko,* conf. dr. *Tökés S. :* „Studiul fizico-chimic şi aplicarea minereurilor argiloase în practica farmaceutică".

Prof. dr. *T. Goina,* asist. *St. Hobai,* stud. *Angela Rodeanu :* „Dozarea unor medicamente cu conţinut de halogeni cu ajutorul unui electrod selectiv pentru halogeni".

Conf. dr. *Adriana Popovici,* ing. *Speranţa Sava,* dr. *A. Schiopu :* „Studiul toleranţei cutanate a grăsimii de nurcă utilizată ca excipient în preparate cosmetice şi farmaceutice".

La 7.V.1975 a avut loc şedinţa ştiinţifică a Secţiei de farmacie, cu următoarea ordine de zi :

Prof. dr. doc. *Candin Liteanu :* „Despre limita de detecţie analitică".

La data de 26.VI.1975 s-a desfăşurat şedinţa ştiinţifică a Secţiei de farmacie, în cadrul căreia au prezentat :

Dr. *Csath Stîncel Zamfira,* conf. dr. *Tökés B. :* „Aspecte recente în interpretarea mecanismului emulsionării".

Farm. *Verterez St.,* dr. *Csantos A. :* „Obţinerea unei baze de unguent corespunzătoare pentru asigurarea absorbţiei percutanate a histaminei".

Dr. *Gyeresi A., Shuller S. Edith :* „Diferenţierea cromatografică a unor derivaţi de semisinteză şi de sinteză a morfinei şi codeinei.

FILIALA ARAD

La data de 20.XII.1974, a avut loc şedinţa ştiinţifică a Secţiei de farmacie, cu următoarea ordine de zi :

Farm. pr. *D. Budişan :* „Congresul al XI-lea al P.C.R.".

Farm. *L. Popa :* „Aspirina aplicată în terapeutică".

Farm. *Alina Valentin :* „Toxicitatea acidului salicilic şi a derivaţilor".

Farm. *M. Purice :* „Picături nazale".

Farm. *E. Lazăr :* „Medicamente cu mediu fenotiazinic".

Farm. *M. Farcaş :* „Stabilitatea vitaminelor hidrosolubile".

În ziua de 21.III.1975, s-a ţinut şedinţa ştiinţifică cu acest program :

— *E. Boldan :* „Stabilitatea aspirinei în formele farmaceutice".

— *R. Faur :* „Vinca Minor".

— *A. Rabetko :* „Extrasul de beladona".

FILIALA BRAŞOV

În ziua de 29.I.1975, şedinţa de comunicări a avut următorul conţinut :

— Farm. *M. Rusu :* „Dare de seamă asupra activităţii secţiei de farmacie pe anul 1974 şi planul de activitate pe anul 1975".

— Farm. *Maria Popa :* „Reacţii adverse ale hormonilor corticoizi".

— Farm. *A. Olteanu :* „Organizarea reţelei farmaceutice din R. P. Bulgaria".

La 26.II.1975 a avut loc şedinţa de comunicări a Secţiei de farmacie, cu următorul program :

— Farm. *Ida Florescu :* „Factori care influenţează viteza absorbţiei unei forme medicamentoase".

— Prof. dr. *A. Radu* (Cluj), farm. *Mariana Radi :* „Probleme de biologie modernă şi de perspectivă din domeniul de cercetare şi valorificare a plantelor medicinale".

Pe data de 26.III.1975, şedinţa de comunicări a filialei Braşov a avut în program :

— Farm. *Maria Popescu :* „Metode de determinare şi corectare a electroliţilor din organism".

— Farm. *Aneta Puşcariu :* „Medicamente noi, indigene şi din import, intrate în terapeutică, cu indicaţiile şi contraindicaţiile respective".

La 28.IV.1975 şedinţa de comunicări s-a desfăşurat pe baza tematicii următoare :

Farm. *Eugenia Avram :* „Aspecte generale ale asistenţei cu medicamente de-a lungul timpului şi principalele momente istorice ale acesteia în ţara noastră".

Farm. *C. Drugescu :* „Medicamente noi în terapeutică".

La 2.VII.1975, ordinea de zi a referit la :

Farm. *Mariana Radu :* „Relaţii biologice ale chimioterapiei".

Farm. *Tatiana Gaiţă :* „Filme, pelicule, locuri în tehnica farmaceutică".

FILIALA SATU MARE

— Şedinţa de comunicări din 5.VI.1975 a cuprins următoarele :

— Dr. *Enătescu Virgil :* „Medicamente psihotrope în terapie şi efectul *placebo*".

— Farm. pr. *Fărcaş Silvia :* „Principii biofarmaceutice şi formularea formelor medicamentoase".

— Farm. pr. *Kornhoffer Wilhelm :* „Antibioticele azi". Nota I :

— clasificarea antibioticelor ;

— instalarea rezistenţei ;

— mecanismul de acţiune.

CONCLUZIILE

SIMPOZIONULUI JUDEȚEAN DE FARMACIE CU TEMA „FORME FARMACEUTICE LICHIDE"

Suceava, 29 septembrie, 1975

Pornind de la faptul că peste 80% din prescripțiile magistrale, efectuate de farmacii, reprezintă forme lichide, se impun o serie de măsuri organizatorice și tehnice de care sectorul farmaceutic trebuie să țină seama, după cum urmează :

a. Studiul îmbunătățirii ambalajelor, cu destinație specială pentru a asigura o securitate maximă în conservarea medicamentelor care se adresează administrării oculare, auriculare, nazale etc. Astfel de ambalaje trebuie să se preteze sterilizării și păstrării sterilității, recomandîndu-se evitarea totală a improvizațiilor dăunătoare.

b. Extinderea preparării în mod aseptic sau cu sterilizare ulterioară, pentru toate medicamentele care se aplică pe mucoase.

c. Aprovizionarea cu substanțe active în stare pură, de calitate corespunzătoare, pentru a se evita întrebuințarea specialităților industriale în vederea înlăturării eventualelor incompatibilități provocate de adjuvanți și totodată pentru a degaja industria prin economisirea unor produse finite care nu trebuie să ajungă ca atare în prescripțiile magistrale.

Medicamentul devine, în felul acesta, mai accesibil pentru bolnav.

Față de penuria medicamentelor care se adresează sugarului și copilului de vîrstă mică, vor trebui inițiate studii, chiar de la nivelul recepturii, pentru elaborarea unor noi forme farmaceutice caracteristice acestei specialități medicale. Aceasta implică o intensificare a colaborării între farmaciști și medici pediatri, pentru a se asigura fiecărei grupe de vîrstă a copilului cele mai adecvate forme farmaceutice.

În medicația auriculară și bucofaringiană se constată existența unui număr redus de medicamente, care nu acoperă necesitățile actuale ale terapeuticii. Se impun cercetări pentru găsirea de noi forme farmaceutice, conforme cu specificul maladiilor semnalate de corpul medical.

Întrucît se observă asocierea frecventă a celor mai diferite substanțe medicamentoase, fie sub formă de substanțe pure, fie ca specialități industriale, se vor efectua cercetări, în continuare, în domeniul interrrelațiilor chimice și biologice dintre aceste substanțe, în scopul evitării incompatibilităților atît de ordin fizico-chimic, cît și farmacodinamic. De asemenea, față de impurificarea microbiologică a medicamentelor în general, care capătă implicații noi în prepararea, conservarea și administrarea medicamentelor, este necesar ca facultățile de farmacie să asigure o pregătire corespunzătoare studenților ; să se reia cursurile de reciclare în acest scop și să se inițieze studii asupra diferitelor aspecte pe care le îmbracă această problemă, de la nivelul farmaciei, pînă la cel al industriei de medicamente.

Din lucrările și discuțiile purtate în cadrul consfătuirii, se degajă necesitatea ținerii unei evidențe stricte a dinamicii recepturii, a urmării atente a acesteia, pentru a se putea cunoaște nevoile farmaciei sau ale teritoriului în aprovizionarea cu medicamente, în delimitarea specificului recepturii pe teritoriul respectiv și în informarea la zi cu datele tehnice și științifice care să asigure o ținută cît mai înaltă a activității farmacistului, în asistența cu medicamente a bolnavilor.

Farm. *Paul Potorac*

Sumar pe probleme al revistei „Farmacia" pe anul 1975

Pag.

I. Tehnica farmaceutică

St. Moisescu, Vasilica Antonescu, I. Vanghelie — Metoda difracției de raze X în cercetarea unor sisteme de substanțe de interes farmaceutic. V. Sistemul acetilsalicilic — carbonat acid de sodiu — apă (vapori) . . . 43
Adriana Popovici — Modificarea permeabilității cutanate după aplicarea preparatelor dermice. Nota III. Acțiunea unguentelor cu vitamine . . 105
Adriana Popovici, Valeria Pîrciu, A. Kovacs — Studiul conservării și cedării vitaminelor din complexul B din diferite geluri 205
Șt. Moisescu, I. Vanghelie, D. Vasile — Metoda fluorescenței cu raxe X în analiza cantitativă a unor substanțe medicamentoase din forme farmaceutice. I. Determinarea fierului din soluțiile injectabile de fier zaharat de producție internă 239

II. Botanică — Farmacognozie

I. Formanek, L. Domokoș, G. Horvath — Cercetări privind acțiunea antibiotică a preparatelor de roibă 1
J. Mathé, G. Racz — Studiul omogenității mucilagului din frunzele de *Hibiscus trionum* 73
M. Roșca, Viorica Cucu — Despre o monoglucozidă a emodinei din scoarța de *Rhamnus Frangula* 111
H. Popescu — *Aetheroleum Thymi* produs în România 153
Doina Albulescu, Madalena Palade, Maria Dafincescu — Contribuții la studiul derivaților cumarinici din *Levisticum officinale Kock* 159
Lucia Grecu, Viorica Cucu — Despre agliconul acidului primulic din rădăcina de *Primula officinalis* 167
Eliza Ghiuru — Cercetări de histoanatomie comparată la specii de *Rumex L.* Frunza. I. Limbul 171
H. Rothbächer, L. Oprei, L. Dinu, C. Iftimie, I. Czellecz — Studiul chimic al uleiului obținut din rășina de *Picea excelsa* 179
Nadejda Pîslăraşu, Cecilia Mircea — Contribuții la studiul farmacognostic al florilor și fructelor speciei *Rhus tyrphina* 183

III. Chimie

Elena Curea, Mirela Marlinovici — Cromatografia în strat subțire și spectrofotometria în U.V. în analiza cantitativă și calitativă a medicamentelor. III. Determinarea prometazinei din amestecuri medicamentoase . . . 7
Ecaterina Andronescu, Simona Silberg, A. Radu — Modificări ale nucleului interfazic sub acțiunea unor substanțe citostatice tiazolice (cercetări electronomicroscopice) 13
Gh. Morait, V. Turculeț — Contribuții la studiul analitic al alcaloizilor. VI. O nouă metodă de dozare complexonometrică a chininei și sărurilor sale 19
D. Oțeleanu, Maria-Agnes Dimitriu — Noi derivați din seria 2-(p-toluensulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu activitate biologică. . 25
Ioana Șaramet — Cercetări asupra ciclizării unor N_1-acil-N_4-aril-tiosemicarbazide. Sinteza unor noi 1,3,4-tiadiazoli 2,5-diasubstituiți de interes terapeutic 35

Pag.

I. Grecu, M. Bojiţa, — Complecşi anionici ai B (III) în analiza şi controlul medicamentelor. Aplicaţii în studiul dozării guanetidinei 49

P. Marcu, I. Grecu — Studiul cromatografic în strat subţire al clordiazepoxidului, diazepamului şi nitrazepamului, folosind complecşi anionici ai Cr (III). 65

L. Roman, Rodica Crăciuneanu, Eugenia Florean, Iulia Pitea, Lucia Chiorean — Noi metode de dozare a Acenocumarolului (Trombostop) 89

Gh. Morait, Laurenţia Petroniu, Silvia Creangă, Crina Popa — Folosirea heteropoliacizilor în analiza medicamentelor. V. Studiul produşilor de reacţie dintre napoton şi heteropoliacizi 129

V. Arieşan, Zenaida Cojocaru, Doina Ghiran, Elena Chindriş, Fl. Gagiu, C. Nistor, Al. Cacoveanu — Cercetări asupra unor amide N-substituite din seria acidului fenoxiacetic 135

D. Oţeleanu, Gh. Morait — Complecşi ai unor derivaţi ai 2-(p-aminobenzen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu metale bi- şi trivalente. Nota I. 197

D. Oţeleanu, Maria Agnes Dimitriu — Sinteza unor 1,3-bis-(5-R-mercapto-3,4-tiadiazol-2-il)-urei cu eventuală activitate hipoglicemiantă 215

Rodica Cătuneanu, D. Dragomir — Metodă spectrofotometrică pentru determinarea fierului din acidul ascorbic 227

D. Turtoi, Em. Pătraşcu — Contribuţii la obţinerea carbonatului de sodiu de calitate reactiv şi farmaceutic 231

V. Zotta, Ana Tătaru — Sinteza unor hidrazidone din seria acidului 1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic. 193

IV. Ştiinţe biologice

D. Bedeleanu, Cornelia Bâcleşanu, Zoe Anca, Magdalena Făgădău — Cercetări asupra acţiunilor biochimice ale medicamentelor. II. Metoda perfuziei de organe (inimă) în aprecierea efectelor medicamentelor antidiabetice orale (Daonil, Tolbutamidă) 79

V. Cojocaru — Dismetabolii protidice sanguine şi modificări histocariologice la şobolan de razele X. Efectul radioprotector al unor compuşi tiolici. Nota I. Radioprotecţia la şoareci cu un nou preparat tiolic comparativ cu cisteina 115

Matilda Rosetti, Denisa Mihele — Cercetări privind influenţa unor substanţe cu nucleu piridinic asupra activităţii ureazei 141

Gh. Nuţă, St. Tămăşdan, Denisa Mihele, Niculina Mitrea-Vasilescu — II. Concentraţia acizilor nucleici din muşchiul şi ficatul de iepure în timpul creşterii 221

V. Toxicologie

I. Popa — Cercetarea cromatografică a meprobamatului din material biologic 31

Vasilica Antonescu — Capacitatea de extracţie a unor solvenţi asupra stricninei 97

Indexul alfabetic al autorilor pe anul 1975

A

Albulescu Doina 159
Anca Zoe 79
Andronescu Ecaterina 13
Antonescu Vasilica 43, 97, 239
Arieșan V. 135

B

Bâcleșanu Cornelia 79
Bedeleanu D. 79
Bojița M. 49

C

Cacoveanu Al. 135
Cătuneanu Rodica 227
Chindriș Elena 135
Chioreanu Lucia 89
Cojocaru V. 115
Cojocaru Zenaida 135
Crăciuneanu Rodica 89
Creangă Silvia 129
Cucu Viorica 111, 167
Curea Elena 7
Czellecz I. 179

D

Dafincescu Maria 159
Dimitriu Maria Agnes 25, 215
Dinu L. 179
Domokoș L. 147
Dragomir D. 227

F

Formanek I. 1
Făgădău Magdalena 79
Florean Eugenia 89

G

Gagiu Fl. 135
Ghimicescu Camelia 147
Ghiran Doina 135
Ghiuru Eliza 171
Grecu I. 49, 65
Grecu Lucia 167

H

Horvath G. 1

I

Iftimie C. 179

K

Kovács A. 205

M

Marcu P. 65
Martinovici Mirela 7
Máthé J. 73
Mihele Denisa 141, 221
Mircea Cecilia 183
Moisescu St. 43, 239
Morait Gh. 19, 129, 197

N

Nistor C. 135
Nuță Gh. 221

O

Oțeleanu D. 25, 197, 215
Oprei L. 179

P

Palade Madelena 159
Petrașcu M. 231
Petroniu Laurenția 129
Pîrciu Valeria 205
Pîslărașu Nadejda 183
Popa Crina 129

Popa I. 31
Popescu H. 153
Popovici Adriana 105, 205
Pitea Iulia 89

R

Racz G. 73
Radu A. 33
Roman L. 89
Rosetti Matilda 141
Roşca M. 111
Rothbächer R. 179

S

Silberg Simona 13
Stan Maria 147
Şaramet Ioana 35

T

Tătaru Ana 193
Turculeţ V. 19
Tămăşdan Şt. 221
Turtoi D. 231

V

Vanghelie I. 43, 239
Vasilescu-Mitrea Niculina 221
Vasile D. 239

Z

Zotta V 193

CONTENTS

Page

Original Works. Experimental Investigations

V. Zotta, Ana Tătaru — *The Synthesis of Some Hydrazidones of the 1,2,4-Triazol-3-il-Mercapto-Acetic* 193

D. Oţeleanu, Gh. Morait — *Complexes of Some 2-(p-amino-benzene-sulphonamide)-5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazole Derrivatives with Bi- and Trivalent Metals. Note I.* 197

Adriana Popovici, Valeria Pîrciu, A. Kovács — *Study of the Conservation and Yielding of B Complex Vitamins from Different Gels* . . . 205

D. Oţeleanu, Maria Agnes Dimitriu — *The Synthesis of Some 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-thiadiazol-2-il)-urea Compounds with an Eventual Hypoglycemic Activity* 215

Gh. Nuţă, St. Tămăşdan, Denisa Mihele, Niculina Mitrea-Vasilescu — *Nucleic Acid Concentrations in the Rabbit Muscle and Liver during Growth. Note II.* 221

Rodica Cătuneanu, D. Dragomir — *Spectrophotometric Method for the Determination of Iron in Ascorbic Acid* 227

D. Turtoi, Em. Pătraşcu — *Contribution to the Preparation of Reactant and Pharmaceutical Sodium Carbonate* 231

St. Moisescu, I. Vanghelie, D. Vasile — *X-ray Fluorescence in the Quantitative Analysis of Some Drugs in Pharmaceutical Forms. I. The Determination of Iron in Injectable Saccharated Iron Solutions* . . . 239

Index of Subjects for 1975

Alphabetical Index of Authors for 1975

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Оригинальные работы. Экспериментальные исследования

В. Зотта, Анна Тэтару — *Синтез некоторых гидразидонов из серии 1,2,4-триагол-3-ил-меркапто-уксусной кислоты* 193

Д. Оцеляну, Г. Мораит — *Комплексы некоторых производных 2-(р-амино-бензенсульфонамидо)-5-Р-меркапто-1,3,4-тиодиазолов с 2- и 3-валентными металлами. Сообщение I* 197

Адриана Попович, Валерия Пырчу, А. Ковач — *Исследование по вопросу сохранения и утраты витаминов комплекса В в различных гелях* 205

Д. Оцеляну, Мария Агнесс Димитриу— *Синтез некоторых 1,3-бис- (5-Р-меркапто-1,3,4-тиодиазол-2-il)-мочевины возможно обладающих гипогликемических действием* 215

Г. Нуцэ, Шт. Тэмэшдан, Дениса Михеле, Никулина Митря-Василеску — *Содержание нуклеиновых кислот в мышцах и печени кролика во время роста. Сообщение II* 221

Родика Кэтуняну, Д. Драгомир —*Спектрофотометрический метод для определения железа в аскорбиновой кислоте* 227

Д. Туртой, Э. Пэтрашку — *К вопросу получения карбоната натрия, обладающего свойствами реактива и фармацевтическими свойствами* 231

Шт. Моисеску, И. Вангелие, Д. Василе —*Метод использования флюоресценций Х-лучей при количественном анализе некоторых лекарственных препаратов, содержащихся в апчечных формах. Сообщение I. Определение железа в растворах сахарного желега для впрыскиванйя местного производства* 239

Указатель опубликованых в 1975 г. журнале „Фармачия" статей по проблемам

Алфавитный указатель авторов статей, опубликованных в журнале „Фармачия" статей за 1975 год

SUMAR

Pag.

Lucrări originale. Cercetări experimentale

V Zotta, Ana Tătaru — *Sinteza unor hidrazidone din seria acidului 1,2,4-triazol-3-il-mercapto-acetic* 193

D. Oţeleanu, Gh. Morait — *Complecşi ai unor derivaţi ai 2-(p-amino-benzen-sulfonamido)-5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazolilor cu metale bi- şi trivalente. Nota I* 197

Adriana Popovici, Valeria Pîrciu, A. Kovács — *Studiul conservării şi cedării vitaminelor din complexul B din diferite geluri* 205

D. Oţeleanu, Maria Agnes Dimitriu — *Sinteza unor 1,3-bis-(5-R-mercapto-1,3,4-tiadiazol-2-il)-ureei, cu eventuală activitate hipoglicemiantă* 215

Gh. Nuţă, St. Tămăşdan, Denisa Mihele, Niculina Mitrea-Vasilescu — *Concentraţia acizilor nucleici din muşchiul şi ficatul de iepure în timpul creşterii. Nota II* 221

Rodica Cătuneanu, D. Dragomir — *Metoda spectrofotometrică pentru determinarea fierului din acidul ascorbic* 227

D. Turtoi, Em. Pătraşcu — *Contribuţii la obţinerea carbonatului de sodiu reactiv şi farmaceutic* 231

St. Moisescu, I. Vanghelie, D. Vasile — *Metoda fluorescenţei de raze X în analiza cantitativă a unor substanţe medicamentoase din forme farmaceutice. I. Determinarea fierului din soluţiile injectabile de fier zaharat de producţie internă* 239

Sumarul pe probleme pe anul 1975

Indexul pe autori pe anul 1975

N'oubliez pas de renouveler votre abonnement pour l'année 1975 et de bien vouloir noter que les commandes doivent être adressées à : „ROMPRESFILATELIA"

64—66 Calea Griviței, Bucarest, Roumanie, P.O.B. 2001, ou par nos correspondents à l'étranger :

ALBANIE	— Drejtorije Quendrore e Pärhapjes dhe Propagandinisttë dibrit, Kruga Konferenca e Pestes — Tirana
ALLEMAGNE (République Démocratique d')	— Buchexport, Leninstrasse 16, Leipzig 701
ALLEMAGNE (République Fédérale d')	— Kubon & Sagner — P.O.B. 68, München 34 — W. E. Saarbach — 5 Köln 1, P.O.B. 101610 — Kunst und Wissen, Erich Bieber — 7000 Stuttgart 1, P.O.B. 46
ARGENTINE	— Libreria Hachette S.A. — Rivadavia 789/45 (R.C.), **Buenos Aires**
AUSTRALIE	— Current Book Distributors PTY Ltd., 425 Pitt St., Sydney N.S.Q. 2000
AUTRICHE	— Globus Zeitung — A — 1200, Hochstadtplatz 3, Wien
BELGIQUE	— Du monde entier, Rue du Midi 162, Bruxelles 1000 — Agences et Messageries de la Presse 1070, Rue de la Petite Ille, B. 170, Bruxelles 7
BULGARIE	— Hemus — Boul. Russki 6, Sofia
CANADA	— Davies Book Co. Ltd., 2220 Beaconsfield Ave, Montreal 261, Quebec — Mc. Gill University, Law Library Chancellor Day Hall, 3644 Peel Street, Montreal 112
CHINE (République Populaire de la)	— China National Publications Import Corporation — P.O.B. 88 — Peking
CORÉE (République Populaire Démocratique)	— Chulpanmul — Phenian
CUBA	— Istituto Cubano del Libro, Calle o'Repply nr. 407, **La Habana**
DANEMARK	— Munksgaard, Norregade 6, Kopenhagen K.
ESPAGNE	— Libreria Herder, Calle de Balmes 26, Barcelona 7
ETATS UNIS	— Fam Book Service, 69 Fifth Avenue, New York, N.Y. 10003 — Ebsco — Subscription Service, P.O.B. 1943, Birmingham, Alabama 35201 — Stechert — Macmillan Inc., 720, Westfield Ave., Pennsauken, N.Y. 08110 — **Read More Publications Inc., 140, Cedar Street, New York, N.Y.** 10.006 — F. W. Faxon Company Inc. — 15 Southwest Park, Westwood Mass. 020090 — **Walter Johnson Inc. — 355 Chestnut Street, Norwood, N.J.** 07648 — Haventa Ltd. — P.O.B. 100, South Harpswell, Maine 040.79
FINLANDE	— Akateemien Kirjakauppa — P.O.B. 128, S.F. 00101 — Helsinki 10
FRANCE	— **Hachette — 58 Rue Jean Bleuzen F. 92170 Vanves** — Dawson — France S.A. Service Librairie B.P. 40 — 91121 — Palaisseau — Offi Lib., 48 Rue Gay Lussac 75 Paris, 50
GRÈCE	— Institute for Balkan Studies Vas Sophian 4, Thessaloniki — Scientific Book's — 2 Hippokratus str. Athens TT 143
HONGRIE	— Kultura, P.O.B. 149 — Budapest 62
ISRAEL	— Haflepac Ltd, 11 Arlosorov Street, Haifa P.O.B. 1794 — Lepac, 15 Rambam Street, P.O.B. 1136 Tel Aviv
ITALIE	— Tor Margrana — Via Arrigo Davilla 106 — Roma — Italia — Messaggerie Internationali, Via Gonzaga 4, 20123, Milano — Libreria Commissionaria Sansoni, Via Lamarmora 45, Firenze
JAPON	— Maruzen Co. Ltd., 3—10 Nihonbashi 2 Chome, Chus — No, Tokyo 103, P.O.B. 5050 — Nauka Ltd. 2—30—19 Minami — Ike — bukuro, Toshima, Tokyo 171, Japon
MONGOLIE	— Mongolgosknigtorog, Ulan Bator
NORVÈGE	— Tiedsskrift Sentralen — Karl Johangt 41—43, Oslo 1
PAYS PAS	— Swets & Zeitlinger — 347 b — Heereweg — Lisse — Martinus Nijhoff — Lange Voorhout 9—11, P.O.B. 269, Haag 2076 — **Meulenhoff, Beulingstraat 2—4, Amsterdam, P.O.B. 197**
POLOGNE	— Ars Polonia Ruch, Warszawa, Krakowskie Predssmecie 7
PORTUGAL	— Libreria Bucholz, Lisboa — Rue Dugue de Palmela 4, Avada Liberdade
ROYAUME-UNI	— Collet's Holding Ltd. — Denington Estate, Wellingborough Northants N.N. 8 ; 2 Q 5 — Hachette Gotch Ltd., Gotch House, 30 St. Bride Street, London EC 4 A 4 BJ. — Dawson & Sons Ltd., Canon House, Folkestone, Kent CT 19 5 EE — Central Books Ltd., 37 Grays Inn Road — London WC 1
SUÈDE	— C. E. Fritzes, Fredsgata 2 — 10327 Stockholm 16 — Almquist & Wiksell — S 1001—20 Stockholm, Box 62.
SUISSE	— Pinkus & Cie. Fraschangasse 7, 8001 Zürich. — Schweizer Buchzentrum, 4600 Olten, Amthansquai 23.
TCHECHO-SLOVAQUIE	— Artia Ve Smeckach 30 — Praha 1 — Slovart, Gottwaldovo nam 48.80.000, Bratislava
U.R.S.S.	— Mejdunarodnaia Kniga, Moskva G 200
VIETNAM	— **So Haut Nhap Sach Boa, Hai Ba — Trung 32 — Hanoi** — Xunhasaba, 32 Hai Ba Trung Hanoi D.R.
YUGOSLAVIE	— Yugoslovenska Kniga — P.O.B. 36 — Beograd — Prosveta — Terazije 16, Beograd, P.O.B. 555 — Forum — Novisad, Iv Misica, P.O.B. 206

1976 MAR 29

REVUES SCIENTIFIQUES MÉDICALES EDITÉES PAR L'UNION DES SOCIÉTÉS DES SCIENCES MÉDICALES DE LA RÉPUBLIQUE SOCIALISTE DE ROUMANIE

— „Revista de chirurgie, oncologie, radiologie, O.R.L., oftalmologie şi stomatologie", cu următoarele subtitluri :

a) CHIRURGIA	(6 fois par an)
b) ONCOLOGIA	(4 fois par an)
c) RADIOLOGIA	(4 fois par an)
d) O.R.L.	(4 fois par an)
e) OFTALMOLOGIA	(4 fois par an)
f) STOMATOLOGIA	(4 fois par an)

— „Revista de medicină internă, neurologie, psihiatrie, neurochirurgie şi dermato-venerologie" cu următoarele subtitluri :

a) MEDICINA INTERNĂ	(6 fois par an)
b) NEUROLOGIA, PSIHIATRIA, NEUROCHIRURGIA	(4 fois par an)
c) DERMATO-VENEROLOGIA	(4 fois par an)

— „Revista de igienă, bacteriologie, virusologie, parazitologie, epidemiologie şi pneumoftiziologie" cu următoarele subtitluri :

a) IGIENA	(4 fois par an)
b) BACTERIOLOGIA, VIRUSOLOGIA, PARAZITOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA	(4 fois par an)
c) PNEUMOFTIZIOLOGIA	(4 fois par an)

— „Revista de pediatrie, obstetrică şi ginecologie" cu următoarele subtitluri :

a) PEDIATRIA	(4 fois par an)
b) OBSTETRICA ŞI GINECOLOGIA	(4 fois par an)

— „FARMACIA" (4 fois par an)

— „VIAŢA MEDICALĂ"

— pentru Cadre superioare	(12 fois par an)
— pentru Cadre medii	(12 fois par an)

— „REVISTA SANITARĂ MILITARĂ" (4 fois par an)

„Taxele poştale achitate conform aprobării D.G.P.Tc. Nr. 137/5736/1974"

EDITURA MEDICALĂ

I. P. „Informaţia" — c. 562

41 500

Lei 6